



**LAHDEN AMMATTIKORKEAKOULU**  
*Lahti University of Applied Sciences*

# LEVÄKASVATUSREAKTORIN INSTALLOINTI JA TESTAUS

LAHDEN  
AMMATTIKORKEAKOULU  
Tekniikan ala  
Ympäristöteknologia  
Ympäristötekniikka  
Opinnäytetyö  
Syksy 2012  
Nina Vuontisjärvi

Lahden ammattikorkeakoulu  
Ympäristöteknologia

VUONTISJÄRVI, NINA:

Leväkasvatusreaktorin asennointi ja  
testaus

Ympäristötekniikan opinnäytetyö, 53 sivua, 8 liitesivua

Syksy 2012

TIIVISTELMÄ

---

Kaikesta maailmassa käytetystä energiasta raakaöljyn osuus on nykyisin 40 prosenttia. Nyky-yhteiskuntamme on hyvin öljyriippuvainen, vaikka maaöljyn loppumisesta sekä sen käytön haitallisista ympäristövaikutuksista on tiedetty jo vuosikymmenten ajan. Monet valtiot ovat vihdoinkin heränneet energiapoliittisiin kysymyksiin. EU, sekä myös Suomi, ovat asettaneet tavoitteeksi nostaa uusiutuvan energian osuutta energian kokonaiskulutuksestaan. Tavoitteeseen pääsemiseksi on tuulivoiman, vesivoiman, puuperäisten biopolttoaineiden lisäksi etsittävä ja tutkittava myös muita uusiutuvan energiamuodon lähteitä.

Tämä opinnäytetyö on kehittämisprojekti osana Tekesin rahoittamaa Aldiga-hanketta. Vuonna 2010 aloittanut hanke tutkii levien hyödyntämistä biodieseltuotannossa. Sen tarkoituksena on kartoittaa ja tutkia tuotantoon soveltuvia levälajeja, etsiä viljelyyn soveltuvia jätevirtoja sekä tutkia ja testata leväenergian soveltuvuutta Suomen olosuhteissa. Vaikka Suomessa leväenergia on kohtuullisen uusi käsite, globaalisti sitä on tutkittu jo useiden vuosien ajan.

Opinnäytetyössä raportoidaan Aldigan leväkasvatusreaktorin kahdesta ensimmäisestä reaktorikasvatuksesta. Ensimmäinen kasvatustestaus tehtiin ilman hiilidioksidin syöttöä ja toinen syötön kanssa. Tarkoituksena oli testata itse reaktorin lisäksi hiilidioksidin vaikutusta levän kasvuun. Kokeet kestivät noin pari viikkoa, minkä aikana reaktorin leväbiomassan kehittymistä seurattiin kuivapainon ja turbiditeetin mittaamisen avulla. Reaktorin lämpötilaa ja pH:ta mitattiin useamman kerran päivässä. Kasvatustestausten pohjustamiseksi opinnäytetyössä tarkastellaan mikrolevien kasvatusta ja keräystä sekä niihin liittyviä näkökulmia, tarpeita ja ongelmia.

Kasvatustestaukset osoittivat, että reaktorissa saavutettiin 0,36 g/l leväpitoisuuksia (kuivapaino) epäorgaanisella kasvatusliuoksella. Hiilidioksidin syöttö paransi kasvua hieman, mutta liian voimakkaana tappoi leviä. Leväbiomassan keräys oli myös haastavaa, mutta bioflokulantti kitosaani osoittautui potentiaalisesti aineeksi erottamaan neste ja biomassan toisistaan. Leväpohjaisista biopolttoaineista voi tulla tulevaisuudessa iso bisnes, mutta siihen pääsemiseksi tarvitaan vielä lisää uutta tekniikkaa ja tutkimusta.

Asiasanat: bioreaktori, bioenergia, biopolttoaineet, mikrolevät, uusiutuva energia

## ABSTRACT

---

Our society is dependent on oil, because about 40 % of all of the world's energy comes from it. Unfortunately, this oil dependence is doomed to fail and alternative fuels are needed, because fossil fuels are running out. In addition, fossil fuels can cause serious environmental problems, such as climate change.

The target of the EU and Finland is to increase their renewable energy consumption considerably by 2020. To achieve these targets, it is important to study other sources of alternative renewable energy, besides wind power, water power and wood-based biofuels. One such source is microalgae.

The Aldiga project started in 2010. Aldiga is doing research on biofuel production based on microalgae grown in wastewater. The purpose of the research is to 1) find suitable microalgae for biofuel production, 2) find useful wastewater media for microalgae, and 3) study and test microalgae production in local conditions.

The purpose of this Bachelor's thesis was to make and report Aldiga's first two growing tests in a photobioreactor. In addition, the thesis deals with the theory of microalgae, pond and photobioreactor culturing and harvesting.

Growing tests lasted about two weeks. The first test was done without the feed of carbon dioxide and the second with it, because the aim was to find out how feedstock affects the growth of the algae. Temperature, pH, dry weight and turbidity were also measured from the reactor.

The conclusion of the tests was that algae concentration can reach at least 0.36 g/l contents in the Combo medium. Carbon dioxide seems to speed up the growth of algae, but it could also be harmful in high concentrations. Harvesting was also a challenge, but bioflocculation chitosan seems to be a potential solution to separate the liquid and biomass from each other. Algae-based biofuel could be a big business, but before that, more research and progress are needed in the near future.

Key words: bioreactor, bioenergy, biofuels, microalgae, renewable energy

## SISÄLLYS

1	JOHDANTO	1
2	LEVÄT	3
2.1	Mikrolevät	3
2.2	Mikrolevien kasvun vaatimukset	4
3	MIKROLEVIEN KASVATUSJÄRJESTELMÄT	7
3.1	Avoimet kasvatusjärjestelmät	8
3.2	Suljetut kasvatusjärjestelmät	10
3.2.1	Paneelifotobioreaktorit (Flat panel airlift reactor/flat plate reactors)	10
3.2.2	Putkifotoreaktorit (Tubular photobioreactors)	11
3.2.3	Muut fotobioreaktorit	12
4	MIKROLEVIEN KASVATUSLIUOKSET	14
5	LEVÄBIOMASSAN KERÄÄMINEN	16
5.1	Leväbiomassan erotusmenetelmät	16
5.1.1	Levien flokkulointi pH:n säädön avulla	18
5.1.2	Levien flokkulointi kitosaanilla	18
5.2	Leväbiomassan käyttömahdollisuudet	20
6	FOTOBIOREAKTORIN KOKOAMINEN	23
6.1	Ilman syöttö ja sekoitus	24
6.2	Hiilidioksidin syöttö	27
6.3	Fotobioreaktorin pesu	29
7	TESTIKASVATUKSET FOTOBIOREAKTORISSA	30
7.1	Testikasvatusten kulku ja suoritus	30
7.2	Testikasvatusten tulokset	33
7.3	Testikasvatusten tulosten tarkastelu	38
8	LEVÄBIOMASSAN KERÄYS FOTOBIOREAKTORISTA	41
9	LEVÄBIOMASSAN FLOKKULOINTITESTAUS KITOSAANIN JA PH:N SÄÄDÖN AVULLA	45
10	LEVÄBIOENERGIATUOTANNON VAHVUUKSIA JA HAASTEITA	49
11	YHTEENVETO	51

LÄHTEET

54

LIITTEET

58

# 1 JOHDANTO

Hiilineutraalien polttoaineiden kehittäminen on yksi yhteiskuntamme kiireellisimmistä haasteista. Kasvihuonekaasujen vähentämiseen ja siitä johtuvan ilmastonmuutoksen hillitsemiseen on alettu etsiä ratkaisua uusiutuvista energiamuodoista. (Gouveia 2011.) EU aikoo nostaa alueellaan uusiutuvien energiamuotojen osuuden 20 prosenttiin energian kokonaiskulutuksesta. Tähän tavoitteeseen liittyen myös Suomi on asettanut tavoitteekseen 38 %:n uusiutuvan energian osuuden energian kokonaiskulutuksestaan vuoteen 2020 mennessä. Vuonna 2010 uusiutuvan energian osuus kokonaiskulutuksesta Suomessa oli noin 27 %, joista suurimpana oli bioenergia, lähinnä puu ja bioperäiset kierrätyspolttoaineet. (Motiva Oy 2012.)

Öljypalmua pidetään yhtenä maailman tuottoisimpana öljykasvina, sillä se voi tuottaa öljyä noin neljä tonnia hehtaaria kohden. Palmuöljy vähentää fossiiliseen dieseliin verrattuna kasvihuonekaasupäästöjä joutomaille viljeltäessä.

Valitettavasti öljypalmuviljelmät perustetaan useasti sademetsiin.

Öljypalmuviljelmä myös köyhdyttää luontoa, sillä öljypalmujen välissä ei voi kasvattaa kunnolla muita matalampia kasveja maanpinnalla olevan juuriston vuoksi. (Savolainen 2007; Kokkonen 2012.)

Nykyisin biopolttoaineita valmistetaan yleisesti kasveista, kuten jo mainituista palmuöljystä, maissista, soijasta ja eläinperäisistä öljyistä, mutta ei mikrolevistä. Varhaisimmat metaanin polttokokeet mikroleväbiomassalla julkaistiin kuitenkin jo 50-luvulla ja laajimmat tutkimukset levien käytöstä polttoainetuotannossa aloitettiin 70-luvulla. Tähän mennessä leviä on tuotettu kolmekymmentä vuotta lähinnä ruuaksi, ja vasta nykyisin levien käyttö biopolttoainetuotannossa on alettu ottaa vakavasti. Leväpohjaisista biopolttoaineista voi tulla iso bisnes, koska ne peittoavat useammat muut biopolttoaineen lähteet. Leväviljelmä voi tuottaa 10 - 12 kertaa enemmän öljyä kuin samankokoinen öljypalmuviljelmä.

Leväbiopolttoaineilla näyttää olevan myös paljon pienempi vaikutus ympäristöön ja elintarviketuotantoon kuin perinteisillä biopolttoainetuotannon viljelykasveilla. (Borowitzka 1999; Chisti 2007; Salomon 2009; Gouveia 2011; Singh & Dhar 2011.)

Vaikka Suomi onkin puupolttoaineidensa vuoksi uusiutuvan energian käytön edelläkävijä EU:ssa, tähän ei ole syytä tuudittautua. Vielä on pitkä matka uusiutuville energiamuodoille asetettuun 38 prosentin osuuteen energian kokonaiskulutuksesta. Pelkällä puujätteen hyödyntämisellä ei saavuteta tavoitetta, ja siksi onkin tutkittava ja kehitettävä myös uusia uusiutuvan energian lähteitä.

Aldiga on vuonna 2010 aloitettu Tekesin rahoittama hanke, jossa tarkoituksena on tutkia levien hyödyntämistä biodieselin ja biokaasun tuotannossa. Projektin tarkoituksena on tutkia ja kartoittaa biopolttoainetuotantoon soveltuvia leviä, etsiä leväviljelmien kasvatukseen soveltuvia jätevirtoja sekä analysoida levien kykyä tuottaa sopivia lipidejä biopolttoainetuotantoon ja tutkia leväbiopolttoaineiden kannattavuutta Suomen olosuhteissa. Tutkimusosapuolia hankkeessa on Helsingin yliopiston lisäksi Lahden ja Hämeen ammattikorkeakoulut, VTT, SYKE ja lukuisat yritykset. (Siitonen 2012.)

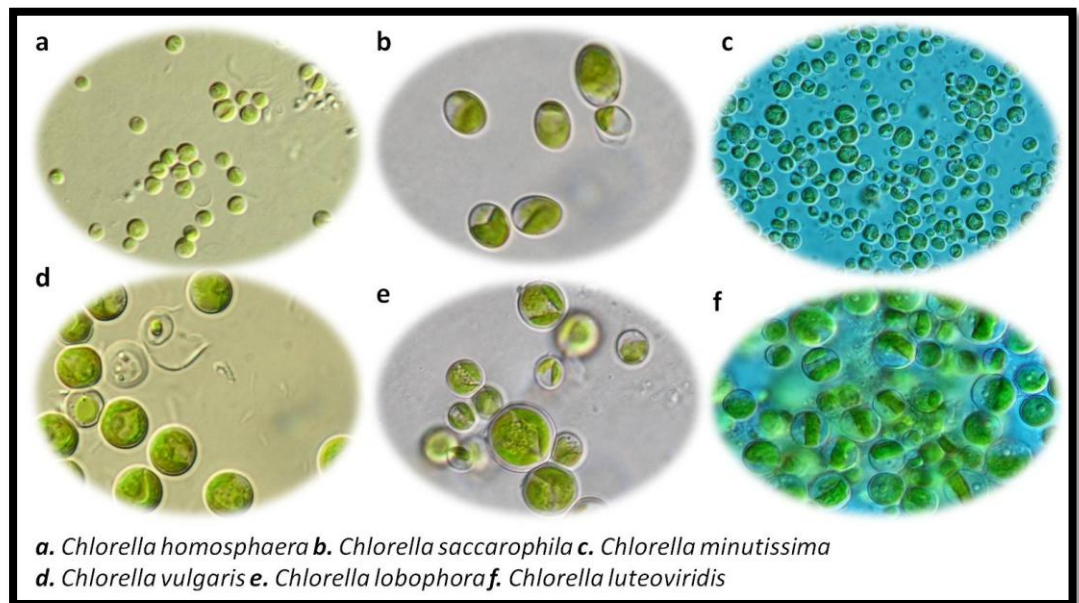
Tämä opinnäytetyö on kehittämisprojekti osana Aldiga-hanketta. Se koostuu 1) fotobioreaktorin asennuksen kuvaamisesta, 2) kahdesta kasvatustestauksesta ja 3) leväbiomassan keräämisen testaamisesta. Teoriaosassa kerrotaan taustaa levän kasvattamisesta ja hyödyntämisestä uusiutuvan energian tuotantoon. Käytännön kokeet tehtiin Helsingin yliopiston ympäristötieteiden laitoksen laboratoriossa Lahdessa.

## 2 LEVÄT

Leviä on tuhansia eri lajeja, ja ne viihtyvät niin makeissa kuin suolaisissakin vesissä. Rakenteeltaan ne ovat joko sekovartisia, rihmamaisia tai yksisoluisia. Sekovartisiksi niitä kutsutaan siksi, että kehittyneemmilläkään makrolevilla ei ole varsinaisten kasvien tapaan juuria, varsia tai lehtiä. Leviin kuuluu monisoluisen, silmällä nähtävien makrolevien lisäksi yksisoluisia, rakenteeltaan yksinkertaisia mikroleviä. Jotkut levälajit voivat liikkua ympäristössään flagellojen, eli siimojensa avulla, joita voi olla levillä 1 - 4 kappaletta lajista riippuen. (Suomen virtuaaliyliopisto 2006; Salomon, 2009, 26; Valtion ympäristöhallinto 2012.)

### 2.1 Mikrolevät

Suurimmaksi osaksi yksisoluiset, mikroskooppisen pienet mikrolevät ovat noin 3 - 30 µm:n kokoisia aitotumallisia eliöitä (kuvio 1). Valtaosa mikroleväistä fotosyntetisii mikro-organismeja, jotka muuntavat auringonvalon, veden ja hiilidioksidin leväbiomassaksi, mutta osa mikrolevistä voi olla myös mikso ja heterotrofisia. Lajista riippuen, mikrolevät tuottavat monia erilaisia lipidejä, hiilivetyjä ja muita monimutkaisia öljyjä. (Suomen virtuaaliyliopisto 2006; Chisti 2007; Rimppi 2009.)



KUVIO 1. Yksisoluisia, Chlorella-suvun mikroleviä suurennettuna (Microalgae Research 2012)



Mikrolevät ovat erittäin nopeakasvuisia; leväbiomassan kuivapaino voi jopa tuplaantua vuorokauden aikana. Eksponentiaalisen kasvun aikana kahdentumisaika voi optimioloissa olla jopa 3,5 tuntia. Noin puolet mikrolevien kuivapainosta on hiiltä, joka on tyypillisesti peräisin hiilidioksidista. On arvioitu, että 100 tonnin leväbiomassan tuottamiseen tarvitaan 183 tonnia hiilidioksidia. (Chisti 2008.)

## 2.2 Mikrolevien kasvun vaatimukset

Fotosynteettinen kasvu vaatii hiilidioksidia, valoa, vettä ja ravinteita. Mikrolevät kasvavat tavallisesti paljon nopeammin kuin maakasvit. Koska ilmakehä sisältää vain 0,03 - 0,06 % hiilidioksidia ja sen sitoutumisen tehokkuus levillä on noin 10 - 50 kertaa nopeampaa kuin maakasveilla, on oletettavaa, että CO<sub>2</sub>:n rajallisuus voi hidastaa solujen lisääntymistä mikrolevillä. Mikrolevät pystyvät kuitenkin ottamaan hiilidioksidia talteen eri lähteistä, esimerkiksi ilmakehästä ja teollisuuden pakokaasuista. Osa mikrolevistä voi hyödyntää hiilidioksidin ohella myös bikarbonaattia (HCO<sub>3</sub>). Koska reaktorikasvatuksessa leväliuoksen pH kasvaa hiilidioksidin kulutuksen vuoksi, hiilidioksidin syöttöä tarvitaan päiväsaikaan pH:n nousun kontrolloimiseksi sekä korvaamaan kulutettua hiilidioksidia. (Chisti 2007; Gouveia 2011.)

Tyypillisesti optimaalinen kasvatuslämpötila mikrolevillä on 20 ja 30 °C:n välillä. Leviä kasvatetaan tavallisesti ulkona luonnonvalossa, mutta myös keinovalot ovat yleistyneet levien viljelyssä. Ominaisuudet, joihin täytyy keinovalon lähteen valinnassa fotosynteettisten mikro-organismien viljelyssä kiinnittää, ovat korkea sähkötehokkuus, minimaalinen lämpöhukka, luotettavuus, kestävyys, pitkä käyttöikä, kompakti koko, edullinen hinta ja valon spektrin sopivuus viljeltävälle kohteelle. Luonnonvalosta tai täyden spektrin valosta noin puolet on fotosynteettisesti hyödyllistä; fotosynteesi on mahdollista alueella 400 - 700 nm. Nykyisin LED-lamput ovat yleistyneet fotobioreaktoreiden valonlähteenä halvan hinnan, pidemmän eliniän, alemman lämmön, pienemmän koon ja korkeamman hyötysuhteensa vuoksi. (Chisti 2007; Gouveia 2011.)

Valon jälkeen lämpötila on tärkein rajoittava tekijä levien viljelyssä, niin suljetuissa kuin avoimissa systeemeissä. Moni mikrolevä voi helposti sietää jopa

15 celsiusastetta matalampia lämpötiloja optimilämpötilastaan. Mutta herkillä lajeilla pienetkin lämpötilan vaihtelut voi johtaa koko kannan menetykseen. Tällöin lämpötilan nousu on valtava ongelma suljetuissa järjestelmissä, sillä kuumina päivinä reaktorin lämpötila voi nousta jopa 55 celsiusasteeseen, mutta onneksi lämpötilaa voidaan laskea esimerkiksi vesijäähdytysjärjestelmän avulla noin 20 - 26 celsiusasteeseen. (Gouveia 2011.) On myös otettava huomioon, että liian suuri veteen liuennut happipitoisuus yhdessä voimakkaan auringonvalon kanssa vaurioittaa leväsoluja. (Chisti 2007.)

Sekoitus on yksi tärkeimmistä kasvuun vaikuttavista parametreista, koska sen avulla elinolosuhteet reaktorissa pysyvät tasaisena. Lisäksi ilmastuksesta johtuva turbulenssi lisää levien kiertoa pimeiltä alueilta valoisille alueille. Liian voimakas sekoitus voi kuitenkin vahingoittaa leviä. Sekoituksen voimakkuus riippuu viljeltävästä levälajista. Ilmakuplien avulla tehdyssä sekoituksessa on myös tärkeää, että kuplat ovat mahdollisimman pieniä, mahdollisimman tehokkaan kaasujen vaihdon aikaansaamiseksi. (Gouveia 2011.)

### **Auto- mikso- ja heterotrofia**

Niin kasvit kuin levätkin tarvitsevat yhteyttämisen raaka-aineiksi valoa, vettä, hiilidioksidia, lämpöä sekä ravinteita. Fotosynteesissä auringon säteilyenergia muutetaan kemialliseksi energiaksi. Raaka-aineena yhteyttämässä käytetään hiilidioksidia ja vettä. Lehtivihreässä säteilyenergia sidotaan vedestä ja hiilidioksidista muodostettuun sokeriin samalla kun happea vapautuu ilmaan. (Pohjola 2010.)

Autotrofia tarkoittaa sitä, että eliö on omavarainen ja kykenee tuottamaan energiansa itse fotosynteesin tai kemiosynteesin avulla. Fotoautotrofit käyttävät hiilenlähteenään ainoastaan hiilidioksidista saatavaa epäorgaanista hiiltä. Suurin osa kasveista on autotrofeja, ne tarvitsevat elääkseen vettä, ilmakehän hiilidioksidia ja ravinteita. Kemoautotrofit saavat tarvitsemansa energian hapettamalla epäorgaanisia yhdisteitä. (Suomen virtuaaliyliopisto 2006; Wikipedia 2010.)

Toisenvaraisuudella, eli heterotrofiolla, tarkoitetaan yksinkertaisimmillaan sitä, että kasvaakseen ja pysyäkseen hengissä eliö tarvitsee energiaa toisilta eliöiltä, eli

on riippuvainen muista selviytyäkseen hengissä. Hiilenlähteinä heterotrofisessa viljelyssä *Chlorella*-levillä on käytetty jo jonkin aikaa asetaattia ja glukoosia. (Borowitzka 1999; Autio & Saloniemi 2012.)

Suurin osa mikrolevistä kykenee vaihtelevaan energian hankintatapaansa yhteyttämisen ja toisenvaraisuuden välillä. Joillakin levillä jopa samanaikainen auto- ja heterotrofia on mahdollista. Termi miksotrofia kuvaa tätä tilaa, jossa eliö voi olla energiataloudellisesti yhtä aikaa tai vuorotellen sekä autotrofi, että heterotrofi. Esimerkiksi levillä se tarkoittaa sitä, että kasvuun ja yhteyttämiseen tarvittava hiili tulee sekä autotrofisesti ilman hiilidioksidista, että heterotrofisesti orgaanisista yhdisteistä. Miksotrofian voi laukaista yleensä heterotrofisissa eliöissä sopivan ravinnon väheneminen tai hivenaineen puutos elinympäristössä. Joillekin lajeille miksotrofia on elinehto, sillä pelkästään heterotrofian tai autotrofian keinoin ne eivät selviydy. (Miksotrofia antaa öljylle potkua 2010; Autio & Saloniemi 2012; Valtion ympäristöhallinto 2012.)

### 3 MIKROLEVIEN KASVATUSJÄRJESTELMÄT

Leviä voidaan kasvattaa joko avoimissa tai suljetuissa kasvatusjärjestelmissä. Viljelyjärjestelmää valittaessa on kiinnitettävä huomiota useisiin erilaisiin seikkoihin. Näitä asioita ovat esimerkiksi levien biologia, maaperän kustannukset, työvoima, vesi, energia, ravinteet, ilmasto-olosuhteet ulkona viljeltäessä sekä lopputuotteen tyyppi. (Borowitzka 1999.)

Levät ovat keskenään erilaisia. Useimpien kaupallisesti tuotettujen mikrolevien yhteinen piirre (*Chlorella*, *Spirulina* ja *Dunaliella*) on se, että ne kasvavat erittäin selektiivisissä ympäristöissä. Tämän vuoksi niitä voidaan kasvattaa avoimissakin kasvatusjärjestelmissä ilman muiden levälajien tai alkueläinten kontaminaatioita. Esimerkiksi *Chlorella*-levä kasvaa hyvin ravinnerikkaassa ympäristössä, *Spirulina*-levä vaatii korkeaa pH:ta sekä bikarbonaattipitoisuutta ja *Dunaliella*-levä kasvaa todella korkeissa suolapitoisuuksissa. Levät, joilla ei ole tällaisia selektiivisiä ominaisuuksia, tulee kasvattaa suljetuissa kasvatusjärjestelmissä. (Borowitzka 1999.)

Viljelyjärjestelmien perusominaisuuksia on voitava vertailla myös keskenään. Kyseisiä ominaisuuksia ovat esimerkiksi järjestelmän valaistuksen tehokkuus, lämpötilan säätelykyky, järjestelmän veden ja kaasujen kierron aiheuttama stressi leville, viljelyjärjestelmän kyky ylläpitää populaation puhtautta sekä miten helposti järjestelmän siirtäminen laboratoriomittakaavasta suurempaan onnistuu. Viljelyjärjestelmän lopullinen valinta on yleensä kompromissi edellä mainittujen ominaisuuksien väliltä. (Borowitzka 1999.)

Viime aikoina on ilmestynyt hybridijärjestelmiä, joissa on sekä avointen, että suljettujen kasvatusjärjestelmien piirteitä. Niissä leväviljelmä kasvatetaan solumäärältään niin suureksi, ettei ei-toivotuilla lajeilla ole enää mahdollisuutta vallata ja saastuttaa kantaa. Esikasvatuksen jälkeen levät siirretään kontrolloituun avoimeen kasvatusjärjestelmään. Tällainen, molempien järjestelmien yhdistelmä, on todennäköisesti loogisin tapa viljellä tehokkaasti leväkantoja biopolttoainetuotantoon. (John, Anisha, Nampoothiri & Pandey, 2010; Gouveia 2011.)

### 3.1 Avoimet kasvatusjärjestelmät

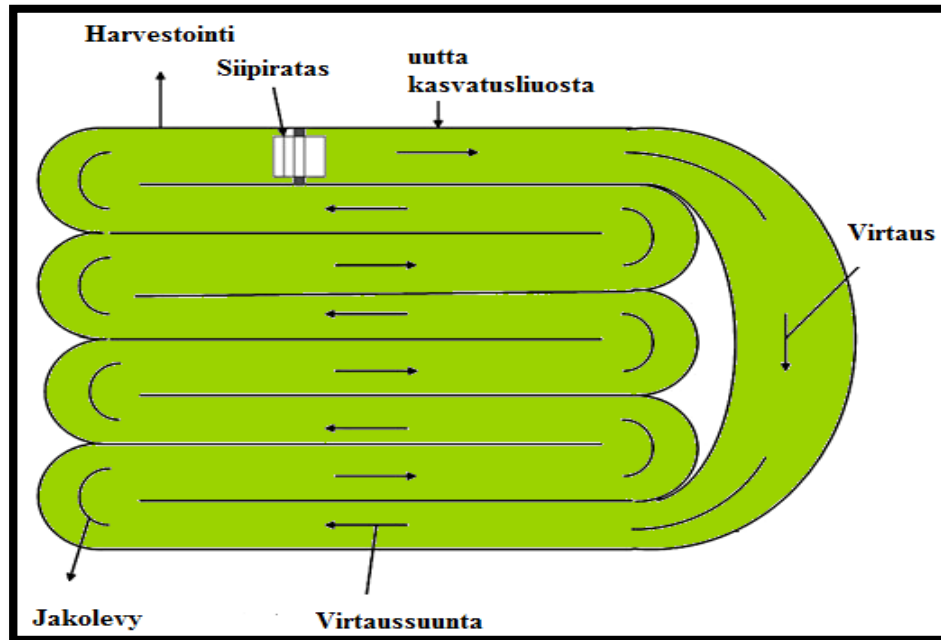
Yleisimmin leviä kasvatetaan ulkotiloihin sijoitetuissa, suoraan auringon valoa hyödyntävissä, avoimissa altaissa. Suuret avoimet järjestelmät ovat kontrolloimattomia, syvyydeltään noin puolimetrisiä altaita, jotka ovat kooltaan noin 1 - 100 hehtaaria. Niiltä puuttuu useasti mekaaninen sekoitus sekä hiilidioksidin syöttö. Avoimet kasvatusjärjestelmät vaativat suuren pinta-alan suljettuihin järjestelmiin verrattuna, sillä solutiheys niissä on yleensä vain noin 0,1 - 0,5 g/litra. Avoimet kasvatusjärjestelmät myös kontaminoituvat helposti. Yleensä biologiset kontaminantit sisältävät ei-toivottuja leviä, hometta, hiivoja, sieniiä ja bakteereita. Kontaminaatoriskin vuoksi on tärkeää, että siirros on riittävän suuri, jotta kanta rikastuisi tarpeeksi ennen ei-toivottuja lajeja. Altaiden puhdistuksen ja huuhtelun pitäisi myös olla osa viljelyrutiinia. Huonoista ominaisuuksistaan huolimatta avoimet kasvatusaltaat ovat kuitenkin erittäin tehokkaita ja halpoja levien viljelyyn. Avoimia kasvatusjärjestelmiä ovat esimerkiksi matalat suuret altaat (shallow big ponds), säiliöt (tanks) sekä pyöreät ja kanavamaiset altaat (circular ponds, raceway ponds). (Borowitzka 1999; Chisti 2007; Malm 2009; Rimppi 2009; Gouveia 2011.)

#### **Avoimet kanavamaiset altaat (raceway ponds)**

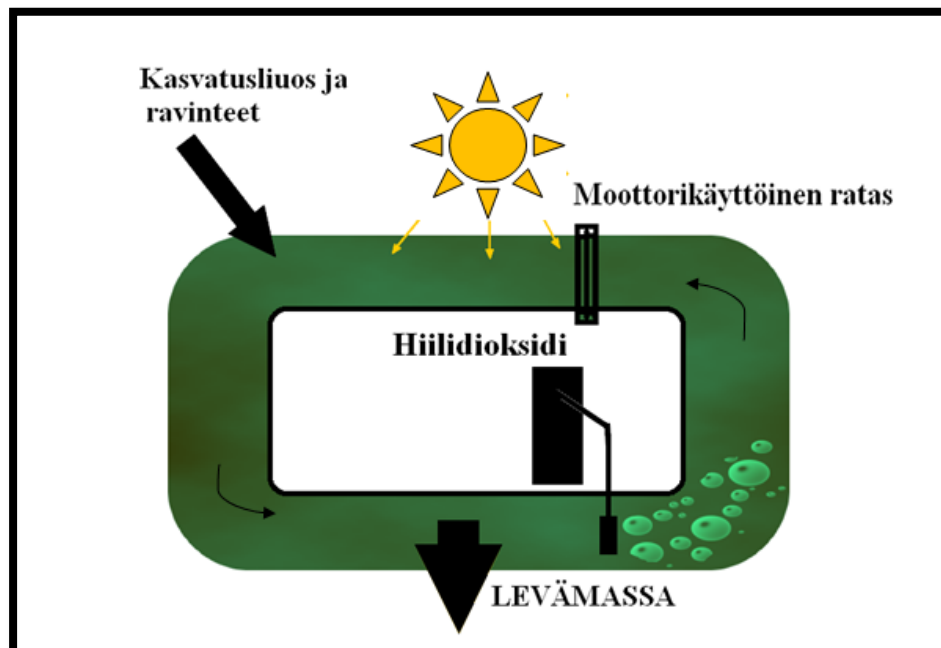
Silmukkamaisia ralliratoja (kuvio 2) ja yksinkertaisimmillaan pyöreitä renkaita (kuvio 3) muistuttavat avoimet kanavamaiset altaat ovat matalia, noin 15 - 30 senttimetriä syviä, yleensä ulkona sijaitsevia kasvatusaltaita. Altaan täytyy olla tarpeeksi matala, jotta valonmäärä riittäisi leväsoluille, mutta tarpeeksi syvä sekoituksen sekä haihtumisesta johtuvien ionikoostumusten muutosten estämisen vuoksi. (Borowitzka 1999; Chisti 2007.)

Altaat on suunniteltu läpivirtausjärjestelmäksi, jossa siipiras kierrättää ja sekoittaa leväsolut ja syötetyt ravinteet. Sekoituksen lisäksi erillistä hiilidioksidin syöttöä voidaan myös käyttää. Tyypillisesti altaat valmistetaan betonista, ja ne kaivetaan maahan ja vuorataan muovilla. Varsinaista jäähdytysjärjestelmää ei ole, vaan jäähdytys onnistuu ainoastaan haihduttamalla. Jäähdytysjärjestelmän puuttumisen vuoksi lämpötila vaihtelee vuorokausirytmien mukaan ja kausiluontoisesti. Tämänkaltaisen kasvatussystemi ei ole uusi keksintö, sillä

avoimia kanavamaisia altaita on käytetty levän massakasvatuksessa aina 50-luvulta saakka. (Chisti 2007; Algae energy: Algae biofuel, biodiesel and renewable energy resource 2012.)



KUVIO 2. Monta virtauskanavaa sisältävä silmukkamainen avoin kanava-allas (Chisti 2007)



KUVIO 3. Yksinkertainen ja avoin kanava-allas, jossa mukana hiilidioksidin syöttö

### 3.2 Suljetut kasvatusjärjestelmät

Bioreaktoriksi kutsutaan laitetta, missä bioprosessi tapahtuu. Tyypillisesti bioprosessissa solut kasvavat suljetun bioreaktorin sisällä kasvatusliuoksessa, joka koostuu vedestä ja siihen liuotetuista raaka-aineista. Reaktorit on yleensä varustettu sekoittimella, ja ne tulee suunnitella siten, ettei kontaminaatioita synny näytteiden oton yhteydessä. Reaktoreissa on yleensä myös jäähdytysjärjestelmä, joka on hyödyllinen päiväsaikaan, ja lämpötilan säätöjärjestelmä viileämpiä öitä varten. (Chisti 2007; Tekes 2012.)

Fotobioreaktorit ovat erinomainen tapa viljellä leviä, mutta ylläpitokustannukset ovat yleensä kymmenen kertaa suuremmat avoimiin kasvatusjärjestelmiin verrattuna. Niillä on kuitenkin saavutettu avoimia kasvatusjärjestelmiä suurempia, jopa 4 g/l solutiheyksiä, minkä takia niiden tuottavuus on tilavuuteensa nähden noin 13-kertainen avoimiin kanavamaisiin altaisiin verrattuna. Leviä voidaan kasvattaa suljetuissa järjestelmissä joko auto-, mikso- tai heterotrofisesti. Monet uudet levät ja levätuotteet on kasvatettava ilman mahdollisia kontaminaatioita, kuten raskasmetalleja tai mikro-organismeja. (Borowitzka 1999; Chisti 2007; Rimppi 2009.)

Fotobioreaktoreita on useita eri malleja ja erilaisten reaktortyyppien yhdistelmiä. Fotobioreaktoreita ovat esimerkiksi paneelifotobioreaktorit, putkifotobioreaktorit, säkki- ja säiliöfotobioreaktorit.

#### 3.2.1 Paneelifotobioreaktorit (Flat panel airlift reactor/flat plate reactors)

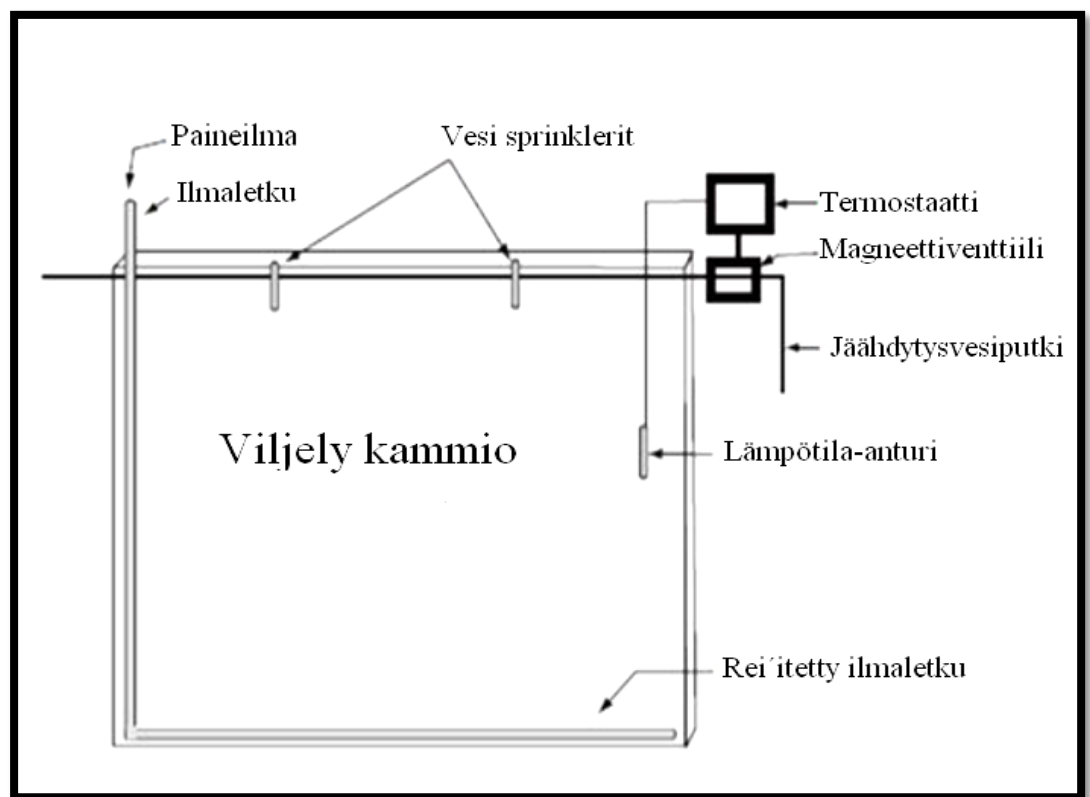
Paneelifotobioreaktorit ovat yleensä litteitä ja niiden leveys vaihtelee tavallisesti 1 ja 5 cm:n välillä. Malleja on useita, niin vaaka- kuin pystysuunnassa. Reaktorin sijainti ja suuntaus optimoidaan auringonsäteilyn perusteella sopivaksi.

Paneelifotobioreaktoreiden etu, esimerkiksi putkimallisiin fotobioreaktoreihin verrattuna on, että niihin tarvitaan vähemmän energiaa tarpeellisen virtauksen, sekoituksen ja lämmönsiirtokapasiteetin aikaansaamiseksi. (Rimppi 2009; Gouveia 2011.)

Paneelifotobioreaktoriin voidaan liittää sekoituksen, ilman- ja hiilidioksidin syötön lisäksi esimerkiksi termostaatti ja lämpötila-antureita sekä vesisprinklereitä

lämpötilan säätelyä varten (kuvio 4). Paneelifotobioreaktoreita on kuitenkin erilaisia.

Esimerkiksi saksalainen yhtiö Subitec ja yhdysvaltalainen Solix Biofuels ovat suunnitelleet ja patentoineet omia litteitä paneelifotobioreaktoreita levämassan tuotantoa varten. Samankaltaista ideaa käyttää myös belgialainen yhtiö Proviron, jonka fotobioreaktori koostuu ohuista pystysuuntaisista levyistä yhden ison läpikuultavan muovipussin sisässä. (Gouveia 2011.)



KUVIO 4. Paneelifotobioreaktori (Oilgae 2012)

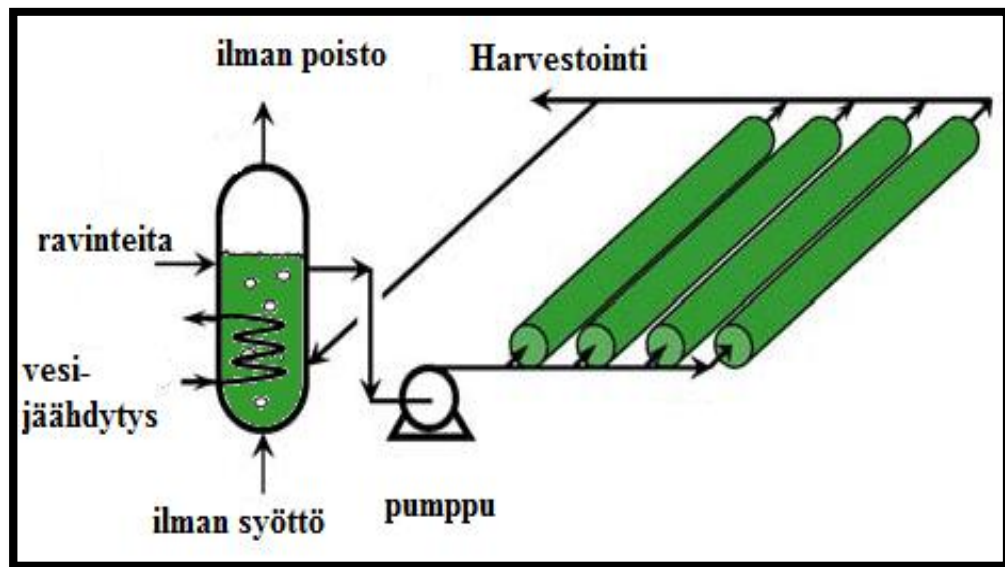
### 3.2.2 Putkifotoreaktorit (Tubular photobioreactors)

Putkifotobioreaktorit koostuvat joukosta suoria läpinäkyviä putkia, jotka on yleensä valmistettu muovista tai lasista. Putket ovat yleensä halkaisijaltaan alle 10 senttimetriä ja ne sijoitetaan reaktoriin joko horisontaalisesti tai vertikaalisesti. Reaktorin putkien alla oleva maa on yleensä maalattu valkoiseksi tai peitetty valkoisella muovilla valon heijastumisen lisäämiseksi. Biomassan



sedimentoitumista putkeen estetään ylläpitämällä voimakasta turbulenttista virtausta. Virtaus tuotetaan joko mekaanisella pumpulla tai hellävaraisemmalla paineilmapumpulla (airlift pump). Mekaanisen pumpun huono puoli on se, että sen käyttö voi vahingoittaa biomassaa, mutta se on helppo suunnitella, asentaa ja operoida. (Chisti 2007; Chisti 2008.)

Putkifotobioreaktori voi koostua esimerkiksi kaasunvaihtokolonnista, johon on yhdistetty aurinkokeräin periaatteella toimivia putkia. Kaasunvaihtokolonni toimii reaktorin kaasunvaihdon, jäähdytyksen ja tuoreen kasvatusliuoksen syötön keskuksena. Leväliemen kierto tapahtuu järjestelmässä siten, että liemi pumpataan kaasunvaihto kolonnin kautta putkiin (kuvio 5). Putkissa levät absorboivat auringonvalon itseensä, minkä jälkeen leväliemi palautetaan takaisin kolonniin. Levien sadonkorjuu tapahtuu putkien kautta ja keräyksessä erotettu neste kierrätetään takaisin järjestelmään kolonnin kautta. (Chisti 2007; Chisti 2008.)



KUVIO 5. Putkifotobioreaktori (Chisti 2007)

### 3.2.3 Muut fotobioreaktorit

Paneelifotobioreaktoreiden ja säkkifotobioreaktoreiden peruseriaate on samankaltainen. Säkki asetetaan kehikkoon tai se voidaan ripustaa roikkumaan. Yksittäisen säkin keskimääräinen tilavuus on  $28 \text{ m}^3$  ja korkeus 2 m. Leväbiomassan sekoitus tapahtuu tuomalla ilmaa säkkiin pohjassa olevasta

sisääntuloputkesta. Säkkifotobioreaktoreiden tärkein ominaisuus on sen käytön helppous. Niillä on pystytty tuottamaan enemmän levää kuin avonaisissa altaissa. (Rimppi 2009; Gouveia 2011.)

Mikroleviä voidaan kasvattaa fotobioreaktoreissa myös merellä. Esimerkiksi NASA:n kehittämässä OMEGA-kasvatusjärjestelmässä mikroleviä kasvatetaan osittain suljetussa systeemissä avomerellä. Viljelmissä käytetään puoliläpäiseviä, meressä kelluvia säkkejä, minne pumpataan jätevettä mikrolevien ravinteeksi. Levien ravinteista puhdistama vesi pääsee osmoottisesti vaihtumaan säkin sivuilta mereen. Tällä tavoin jätevesi puhdistuu ja kasvanutta levää voidaan hyötykäyttää esimerkiksi biopolttoainetuotannossa. (NASA 2012.)

Helppohoitoisia, ilmastettuja ja jatkuvasekoitteisia säiliöfotobioreaktoreita käytetään yleensä vain leväkannan ylläpitoon ja suurentamiseen suurempaa viljelyä varten. Niitä on myös käytetty kalankasvatuksessa tuottamaan levää kalojen rehuksi. Säiliöreaktoreissa on sylinterinmuotoinen säiliö, jossa sekoitus tapahtuu yleensä moottorikäyttöisellä aisalla tai magneettien avulla. (Rimppi 2009.)

#### 4 MIKROLEVIEN KASVATUSLIUOKSET

Leviä voidaan helposti kasvattaa erilaisissa vesiympäristöissä. Koska leviä voidaan polttoaineiden tuotantoa varten kasvattaa suolaisissa vesissä tai yhdyskuntajätevesissä, niiden ei tarvitse kilpailla samasta vedestä viljelykasvien kanssa. Levät voivat lisäksi tarjota kestävä jätteen puhdistusmenetelmän käyttämällä kasvuravinteita, kuten typpeä ja fosforia, maatalouden valumavesistä ja kunnallisista tai teollisista jätevesistä. (John, Anisha, Nampoothiri & Pandey 2010.)

Leväkasvatusliuoksen täytyy sisältää epäorgaanisten alkuaineiden lisäksi typpeä, fosforia, vitamiineja ja hivenaineita, kuten piitä, kobolttia, kuparia, molybdeenia, sinkkiä ja nikkeliä. On olemassa lukuisia kasvatusliuosten reseptejä sekä makean, että suolaisten vesien leville. (Kilham, Kreeger, Lynn, Goulden & Herrera 1996; Singh & Dhar 2011.) Tässä opinnäytetyössä raportoidut kasvatuskokeet tehtiin epäorgaanisella COMBO-kasvatusliuoksella, ja osa flokkulointikokeista EG-kasvatusliuoksella.

Yksi makean veden levien kasvatusliuoksista on nimeltään EG (Euglena Gracilis Medium). Se sisältää kalsiumkloridia, natriumasetaattia, lihauutetta, tryptonia ja hiivauutetta. Säilytyspulloon tehty valmis liuos sekoitetaan hyvin, ja autoklaavataan ennen käyttöä. (Culture Collection of Algae and Protozoa 2007.)

COMBO-kasvatusliuos on kehitetty sekä makean veden levien, että eläinplanktoneiden kasvua tukeväksi kasvatusliuokseksi. Sitä varten tehdään tislattuun veteen seitsemän erillistä pääliuosta, sekä kolme muuta liuosta nimeltään; levien hivenaineet, eläinplanktonien hivenaineet ja vitamiinit (taulukko 1). Valmis COMBO-kasvatusliuos desinfioidaan joko ruiskusuodatuksen tai autoklavoinnin avulla. (Kilham, Kreeger, Lynn, Goulden & Herrera 1996.)

Kasvatustestauksia varten valmistettiin etukäteen paljon kasvatusliuoksia. Kontaminaatioiden välttämiseksi pääliuokset, sekä hivenaineet ja vitamiinit autoklaavattiin kerran. Tämä saattoi vaikuttaa mahdollisesti joihinkin komponentteihin yhdisteitä hajottavalla tavalla.

TAULUKKO 1. COMBO-kasvatusliuoksen ainesosat

COMBO-kasvatusliuos			
Pääliuokset	Levien hivenaineet	Eläinplanktonien hivenaineet	Vitamiinit
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (36.76g/l)	$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{LiCl}$	$\text{B}_{12}$ vitamiini
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (36.97g/l)	$\text{FeCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	$\text{RbCl}$	biotiini
$\text{K}_2\text{HPO}_4$ (8.71g/l)	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	tiamiini
$\text{NaNO}_3$ (85.01g/l)	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$\text{NaBr}$	
$\text{NaHCO}_3$ (12.60g/l)	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{KI}$	
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (28.42g/l)	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$		
$\text{H}_3\text{BO}_3$ (24.00g/l)	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$		
$\text{KCl}$ (7.45g/l)	$\text{H}_2\text{SeO}_3$		
	$\text{Na}_3\text{VO}_4$		

## 5 LEVÄBIOMASSAN KERÄÄMINEN

Kasvatuksen jälkeen leväsolut on erotettava laimeasta kasvatusliuoksesta ennen jatkokäsittelyä. Kasvatusliuoksen alhaisen leväkonsentraation sekä levien pienen solukoon vuoksi, erotus on kuitenkin haastavaa tilavuuksien ollessa suuria.

Keräystekniikka on riippuvainen levän ominaisuuksista sekä lopputuotteen muodosta. Ei ole olemassa yhtä universaalia hyvää menetelmää, sillä jokainen levälaji on erilainen ja käyttäytyy eritavalla, joten jokaiselle levälle pitää räätälöidä omansa. Tällä hetkellä leväbiopolttoaineiden tuotanto ei ole kaupallistunut korkeiden tuotantokustannusten takia. Tämä johtuu pääasiassa kasvatus- ja keräysmenetelmien kustannustehottomuudesta, sillä jopa 20 - 30 % biomassan tuotannon kokonaiskustannuksista voi johtua biomassan talteenotosta. (Chisti 2007; Johnson & Wen 2009; Malm 2009; Gouveia 2011.)

### 5.1 Leväbiomassan erotusmenetelmät

Leväbiomassan erotusmenetelmiä ovat esimerkiksi sentrifugaus, flokkulointi, flotaatio, laskeutus, suodatus, elektrolyyttinen flokkaus, elektroflotaatio ja magneettinen erotus.

Sentrifugi on tehokas, ja yksi yleisimmistä biomassan erotusmenetelmistä. Käytännössä sentrifugi on laskeutumistankki, missä on tehostettu gravitaatiokenttä, joka kasvattaa laskeutumisnopeutta. Sillä voidaan saavuttaa korkeita yli 10 %:n kiintoainepitoisuuksia. Hyvistä ominaisuuksistaan huolimatta se on kallis menetelmä, joten ainoana erotusmenetelmänä sitä ei kannata käyttää. Sentrifugaus soveltuu paremmin viimeiseksi erotusmenetelmäksi flokkuloinnin tai flotaation jälkeen. (Malm 2009.)

Nesteen sisältämät hiukkaset voidaan saada flokkautumaan flokkulointiaineiden ja saostuskemikaalien avulla. Flokkulointiaineet jaetaan usein epäorgaanisiin flokkulantteihin, orgaanisiin flokkulantteihin ja bioflokkulantteihin. (Malm 2009; Kemira 2012.)

Hiukkasille on yhteistä negatiivinen pintavaraus, mikä on usein niin voimakas, että hiukkaset hylkivät normaalioloissa toisiaan. Hiukkasten luontaista negatiivista pintavarausta voidaan neutralisoida lisäämällä veteen esimerkiksi metallisuoloja,

joilla on positiivinen varaus. Kun hiukkasten pinnat ovat neutraloituneet, vettä on sekoitettava, jotta hiukkaset tarttuvat toisiinsa ja muodostavat flokkeja. Tätä vaihetta kutsutaan flokkaukseksi. Tällöin hiukkaset kerääntyvät flokiksi, ja voidaan näin helposti poistaa nesteestä. Flokit voidaan poistaa esimerkiksi flotaation tai laskeutuksen avulla. (Kemira 2012.)

Alumiinisulfaattia ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) ja ferrikloridia ( $\text{FeCl}_3$ ) on käytetty yleisesti saostuskemikaaleina, koska ne ovat tehokkaita flokkulantteja. Ne saattavat kuitenkin jättää haitallisia metallijäämiä biomassaan, jolloin sitä ei voi käyttää ruuaksi tai rehuksi. Tarvittavat ainemäärät ovat myös melko suuria mistä tulee lisäkustannuksia keräykseen. (Malm 2009.)

Flotaatio perustuu kolmen eri faasin, kiinteän, nesteen ja kaasun vuorovaikutukseen. Sen avulla voidaan erottaa kiinteitä tai nestemäisiä partikkeleita nestefaasista. Erotus voidaan tehdä esimerkiksi lisäämällä pieniä kaasukuplia nesteeseen, jolloin vesimolekyylejä hylkivät partikkelit tarttuvat ilmakupliin. Kuplien avulla erotettavat partikkelit nousevat pinnalle, josta ne voidaan kaapia pois. Flotaatioreagenssien avulla partikkeleita voidaan muokata flotaation aikaansaamiseksi. (Polvinen 2012.)

Flotaation päinvastainen prosessi on laskeutus, jossa nesteessä olevien kiintoaineiden annetaan laskeutua omalla painollaan pohjalle erotettavaksi. Laskeutus on flotaatiota hitaampi kiintoaineen erotusmenetelmä. (Wiser Oy 2012.)

Kasvatusolosuhteiden muutos (korkea pH, typpivajaus, lämpötilan muutos, liuenneen hapen muutos) tai äkillinen shokki voi aiheuttaa levien flokkautumista. Leviä voi flokata myös bakteerien avulla. Bioflokulaatio bakteereilla vaatii kuitenkin kasvatusalustan modifioimista, jotta bakteerit saisivat lisää ravinteita ja energiaa. Tämä lisää valitettavasti myös ei-toivottujen bakteerien leviämistä tuotantoon. Jotkut levälajit kykenevät flokkautumaan myös luonnollisesti. On osoitettu, että luonnollisesti flokkautuvat levät kykenisivät edesauttamaan myös muiden levien flokkautumista. Tämä tekniikkaa vaatii vielä suuremman mittakaavan kokeita, jotta voitaisiin todistaa menetelmän toteutuvuus ja

tehokkuus teollisessa mittakaavassa. (Malm 2009; Salim, Bosma, Vermuë & Wijffels 2010.)

Elektrolyttisessä flokkauksessa levät flokkaantuvat ja flokit erottuvat ilman lisättyjä flokkulanteja sähkön avulla. Elektroflotaatio puolestaan perustuu sähkökemialliseen elektrolyysiin. Flotaatiosäiliön pohjalle sijoitetaan horisontaalisesti elektrodeja ja prosessissa syntyvät vetykaasukuplat nostavat flokatut levät pintaan. Menetelmällä päästään 3 - 5 %:n kiintoainepitoisuuteen, mutta valitettavasti energiankulutukseltaan se on kallis prosessi. (Malm 2009.)

Suurgradienttista magneettisuodatusta on käytetty raskasmetallien sekä suspensiohiukkasten poistoon jätevesissä, mutta metallijäämien vuoksi menetelmä sopii huonosti polttoainetuotantoon, biomassan jatkokäsittelyä ajatellen. (Malm 2009.)

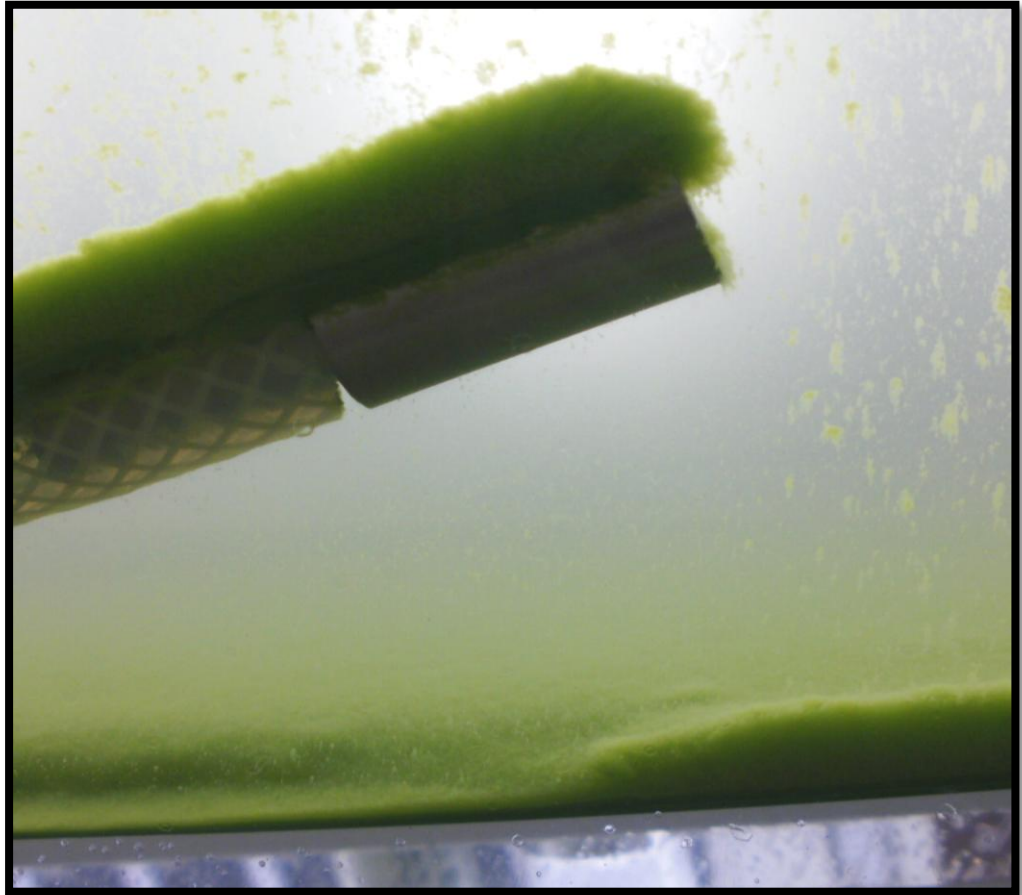
#### 5.1.1 Levien flokkulointi pH:n säädön avulla

Leväsoluja voidaan flokata myös pH:n säädön avulla. Levien kasvatusliuokseen pitäisi muodostua flokkeja, kun nesteen pH ylittää 11,3, mikä on teoreettinen arvo magnesiumhydroksidin sakkautumiselle. Tämä saadaan aikaiseksi nostamalla liuoksen pH:ta esimerkiksi natriumhydroksidilla (NaOH) (kuvio 6). Levien lipidipitoisuuden ei pitäisi muuttua ja jäljelle jääneen liuoksen voi neutraloida ja kierrättää takaisin kasvatukseen. (Malm 2009.)

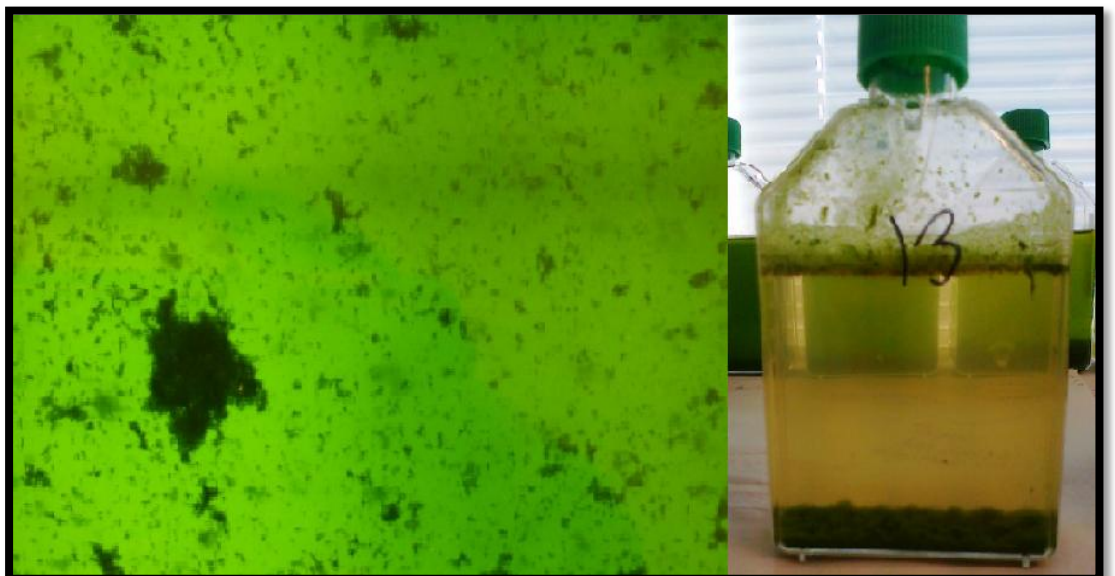
#### 5.1.2 Levien flokkulointi kitosaanilla

Biohajoava kitosaani on syötäväksi kelpaava myrkytön bioflokkulantti (kuvio 7), jota valmistetaan kitiinistä, rapujen kuorimateriaalista. Kitiini jalostetaan kitosaaniksi kemiallisen prosessoinnin avulla ja siitä eteenpäin käyttökohteesta riippuen esimerkiksi geeliksi, hiutaleiksi tai kalvoiksi. Tietynlainen kitosaani sitoo itseensä rasvoja ja sitä käytetään esimerkiksi jäteveden puhdistuksessa, lääketeollisuudessa sekä kosmetiikka- ja elintarviketeollisuudessa. Kitosaanilla on myös huonot puolensa, sillä kitosaani toimii parhaiten vain pH 7:n tuntumassa ja sen flokkausteho laskee suolaisessa vedessä. (Heikkilä 2003; Malm 2009.)

Koska kitosaani on biohajoava, luonnosta peräsin oleva tuote ja ruokateollisuuden sivujäte, sitä voidaan pitää ekologisena ja turvallisena flokkulointivaihtoehtona myös leväbiomassan keräysprosessissa.



KUVIO 6. pH:n nostamisen avulla reaktorin pohjalle flokannut levämassa





## KUVIO 7. Kitosaanin avulla flokanneet leväbiomassat

### 5.2 Leväbiomassan käyttömahdollisuudet

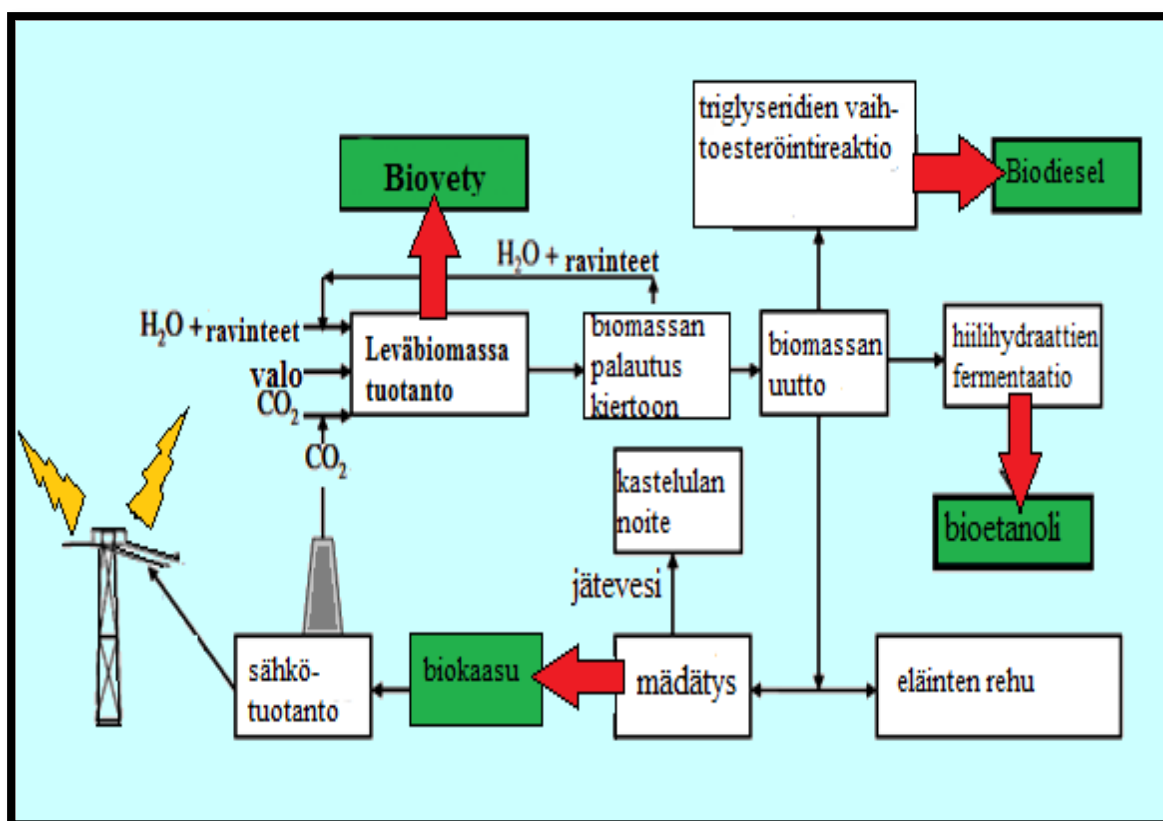
Mikrolevien kaupallista käyttöä on harjoitettu jo vuosikymmenten ajan. Levistä voidaan tehdä ruokaa, rehua tai orgaanisia lannoitteita, biohajoavaa muovia ja pigmenttejä. Siitä saa myös arvokkaita ravitsemuksellisia yhdisteitä, kuten omega-3-rasvahappoja, proteiinia ja vitamiineja. Esimerkiksi *Chlorellaa* ja *Spirulinaa* on käytetty ravintolisänä, *Dunaliella salinaa* beetakaroteenin lähteenä sekä *Haematococcus pluvialis* astaksantiinin lähteenä. (Borowitzka 1999; Gouveia 2011.)

Mikrolevistä voidaan tehdä myös biopolttoaineita, koska monet mikrolevät ovat erittäin öljypitoisia; 20 - 50 %:n öljypitoisuus on yleistä ja joidenkin lajien kuivapainon öljypitoisuus voi ylittää jopa 80 %. Kaikki leväöljyt eivät ole potentiaalisia biopolttoainetuotantoon, mutta sopivia esiintyy yleisesti. On myös tutkittu, että leväsolujen lipidipitoisuus kasvaa huomattavasti kun leväsolut altistuvat epäsuotuisille kasvuolosuhteille esimerkiksi rajoittamalla valon ja ravinteiden määrän kasvuvaiheessa. (Chisti 2007; Gouveia 2011.)

#### **Mikroleväpohjaiset biopolttoaineet**

Yleisimmät biopolttoaineet ovat biodiesel ja bioetanoli, joiden tarkoituksena on korvata lähinnä perinteiset nestemäiset polttoaineet kuten dieselöljy ja bensiini. Biopolttoaineet on yleisesti luokiteltu joko ensimmäisen- (sokeri ja tärkkelyskasvit, rypsi ja rapsi), tai toisen sukupolven biopolttoaineisiin (lignoselluloosamassa), siihen käytettyjen raaka-aineiden perusteella. Leviä on viimeaikoina alettu kutsua kolmannen sukupolven biopolttoaineiksi. (John, Anisha, Nampoothiri & Pandey 2010.)

Leväbiomassasta voi tehdä biodieselin ja bioetanolin lisäksi myös, biovetyä ja biokaasua (kuvio 8).



KUVIO 8. Leväenergian tuotannon prosessikaavio (muokattu: Singh & Dhar 2011)

Biodieselin valmistusprosessissa mikrolevien lipidien uuttaminen on yleensä kaksivaiheinen. Ensin leväsolut rikotaan, mitä seuraa liuotin uutto. Menetelmän valinta on riippuvainen käytettävän lajin ominaisuuksista, kuten solun muodosta, koosta ja soluseinän paksuudesta. (John, Anisha, Nampoothiri & Pandey 2010; Gouveia 2011.)

Bioetanolia voidaan valmistaa levistä seuraavan kolmen menetelmän avulla. Levä voi sisältää huomattavia määriä biomassaa, tärkkelyksen tai selluloosan muodossa, jotka voidaan muuntaa käymiskykyisiksi sokereiksi ja nämä sokerit taas voidaan muuntaa bioetanoliksi. Jotkut levät kykenevät myös itse tuottamaan etanolia pimeäkäymisen aikana. On myös yritetty luoda geneettisesti muokattuja leviä, jotka kykenisivät tuottamaan suoraan etanolia. (John, Anisha, Nampoothiri & Pandey 2010.)

Bioetanolin valmistusprosessissa hiilihydraatit muutetaan ensin sokereiksi, minkä jälkeen seuraa käymisprosessi. Käymistä ennen tärkkelyksen tarvitsee olla

hydrolysoitunut yksinkertaisiksi sokereiksi, käyttämällä happohydrolyysiä tai entsymaattista hydrolyysiä. Sen jälkeen tärkkelyksen käymisprosessi voidaan suorittaa joko yksi- tai kaksivaiheisesti. Käymisvaiheessa sokerit fermentoituvat sopivan hiivakannan avulla etanoliksi. Molemmat prosessit voidaan myös suorittaa samanaikaisesti yhdessä vaiheessa jos amylaasia tuottavaa kantaa voidaan käyttää etanolin käymisessä. Lopuksi 10 - 15 -prosenttinen etanoli puhdistetaan vedestä ja epäpuhtauksista tislaamalla. Konsentroidu 95 -prosenttinen etanoli voidaan käyttää suoraan polttoaineena tai sekoittaa fossiilisten polttoaineiden joukkoon. (John, Anisha, Nampoothiri & Pandey 2010.)

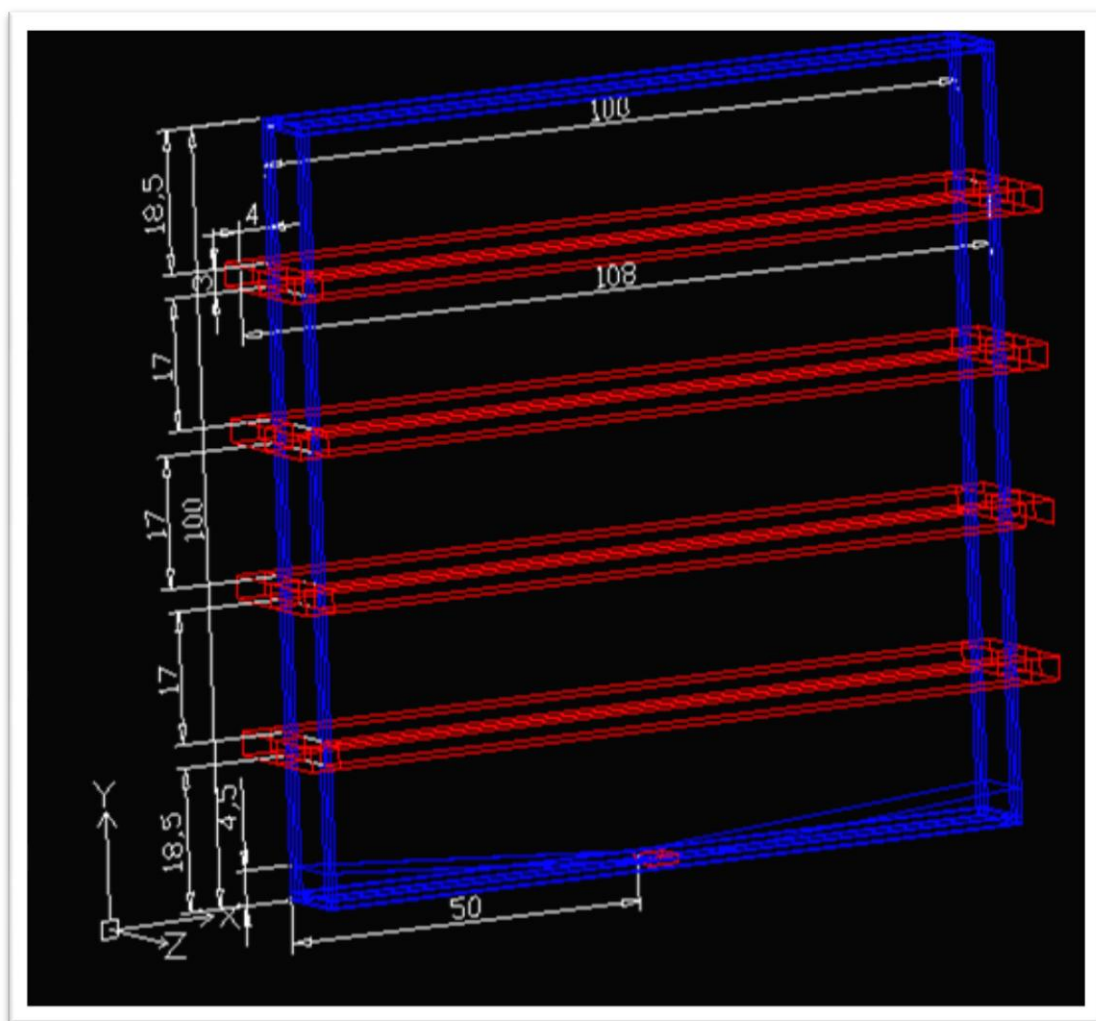
## 6 FOTOBIOREAKTORIN KOKOAMINEN

Aldiga-projektin kasvatuskokeissa käytettiin suljettua kasvatusjärjestelmää. Kyseisen paneelifotobioreaktorin korkeus oli 100 cm, pituus 100 cm, leveys 10 cm ja kokonaistilavuus 100 litraa (kuvio 10). Reaktori oli materiaaliltaan sentin paksuista polymetyylimetakrylaattia (pleksimuovi). Reaktorissa oli kiinni metalliset tukirakenteet sekä irrotettavat, loisteputkilampuista koostuvat valokehikot (kuvio 9).



KUVIO 9. Fotobioreaktoriin oli kiinnitetty irrotettavat valokehikot

Reaktorissa oli irrotettava kansi, johon porattiin useita reikiä, joihin kiinnitettiin tiiviisti muoviset liittimet, tiivisteet ja korkit ilman ja hiilidioksidin syötön sekä näytteenottovälineiden liittämisen helpottamiseksi. Reaktorin pohja oli molemmista päistä keskikohtaan päin kalteva. Pohjan keskikohdassa oli palloventtiili, levän keräämisen, näytteenoton ja tyhjentämisen helpottamiseksi. Työturvallisuuden, riittävän ilmatilan ja mahdollisen kuohumisen vuoksi fotobioreaktori täytettiin kasvatuskokeissa maksimissaan 85 litralla nestettä.



KUVIO 10. Fotobioreaktorin kokonaistilavuus oli 100 l

## 6.1 Ilman syöttö ja sekoitus

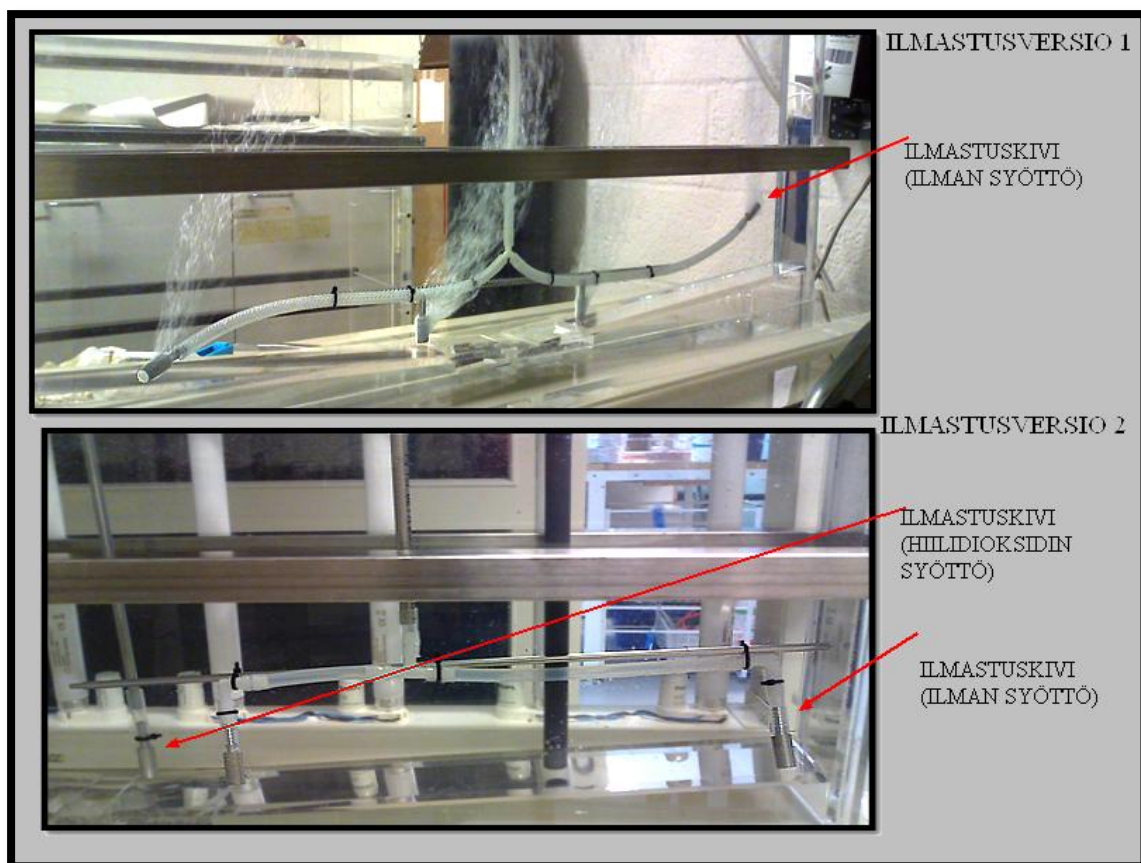
Fotobioreaktorin ilmansyöttö toteutettiin VWR international -akvaariopumpulla, joka pumppasi huoneilmaa reaktoriin ilmastaen ja sekoittaen kasvatusliuosta. Pumpun virtausnopeus oli noin 6 litraa minuutin aikana. Koska fotobioreaktoriin

pumpattiin huoneilmaa, liiallisen happipitoisuuden riski ei ollut kovin suuri. Syötettävä ilma puhdistettiin suodattimen avulla ennen reaktoriin pääsyä.

Reaktorissa kokeiltiin useita eri ilmastusversioita. Ilmastusversiossa 1 ilma pumpattiin yhden läpiviennin kautta fotobioreaktorin sisällä olevaan muoviputkeen ja sitä pitkin reaktorin pohjalle, jossa t-haaran avulla ilma johdettiin tasaisesti kahteen pitkittäissuuntaiseen letkuun. Molempien letkujen puolella välissä sekä kummassakin päässä oli kiinnitettynä ilmastuskivi (kuvio 11). Muoviputkien tukena käytettiin metallisauvaa sekä kiinnikkeinä nippusiteitä. Ilmastuskiviä oli yhteensä neljä kappaletta. Ilmastusversiota 1 käytettiin ensimmäisessä kasvatustestauksessa (koe 1).

Ilmastusversiossa 2 ilma pumpattiin muoviputkeen, joka haarautui kahteen erilliseen haaraan, joista ilma virtasi kahden läpiviennin kautta reaktoriin (kuvio 11). Reaktorissa oli kaksi erillistä metalliputkea, joiden päässä oli t-haarainen liitin, johon oli kiinnitetty silikoniputkea. Silikoniputkien päähän oli kiinnitetty l-haarainen liitin, jonka päähän oli kiinnitetty ilmastuskivi. Silikoniletku oli tuettu metallisauvalla. Ilmastuskiviä oli yhteensä 2 x 2 kappaletta.

Ilmastuskiviä ja silikoniputkea kokeiltiin ilmastusversioissa, koska niiden sterilointi oli helppoa autoklavoinnin avulla. Ilmastusversio 2 kuitenkin osoitti, että silikoniletku oli liian joustavaa, koska ilmanpaine irrotti ilmastuskivet ja liittimet helposti paikoiltaan. Ilmastusversiossa 2 oli liian monia helposti irtoilevia osia, joten sitä ei päädytty käyttämään varsinaisessa kokeessa. Ilmastuskivet osoittautuivat myös huonoiksi, sillä niiden mikroskooppisen pienet ilmareiät tukkeutuivat levien vaikutuksesta parin viikon kuluessa.



KUVIO 11. Reaktorin ilmastusversiot 1 ja 2

Ilmastusversiossa 3 kokeiltiin silikoniputken rei'ittämistä. Tämä osoittautui ilmastuskiviä käytännöllisemmäksi ja helpommaksi ratkaisuksi. Ilmastusversiossa 3 (kuvio 12) ilma syötettiin yhden läpiviennin kautta metalliputkea pitkin reaktorin pohjalle. Metalliputken päässä oli poikittainen metallinen tukirakenne ja t-haarainen liitin, josta lähti kaksi pitkittäissuuntaista silikoniputkea metallitukirakenteen ympärille kiertyen. Metallitukirakenteen molemmissa päissä oli kiristimet, joilla silikoniputken päät oli kiinnitettyinä tukirakenteeseen.

Silikoniputkiin oli tehty neulalla paljon pieniä reikiä viiden sentin välein suuriksi ryppäiksi, jotta reaktoriin saataisiin mahdollisimman paljon pienikuplaista turbulenssia aikaiseksi. Ilmastusversio 3 oli toimiva, mutta metalliset tukirakenteet ja kiristimet eivät olleet vedenkestäviä ja ruostuivat nopeasti.

Ilmastusversio 4 (kuvio 12) oli muuten edeltävänsä kaltainen, paitsi metallisista kiristimistä luovuttiin ja ne korvattiin nippusiteillä ja ilmastuslaitteisto



rakennettiin ja tuettiin pvc-muoviputkilla (kuvio 12). Ilmastusversiota 4 käytettiin toisessa testikasvatuksessa (koe 2.3).



KUVIO 12. Reaktorin ilmastusversiot 3 ja 4

## 6.2 Hiilidioksidin syöttö

Hiilidioksidi on lähes hajuton ja väritön kaasu, joka liukenee veteen ja on ilmaa raskaampaa. Ihmisille huoneilman hiilidioksidi on haitallista yli 2 %:n pitoisuuksissa aiheuttaen esimerkiksi päänsärkyä, mutta vasta yli 10 %:n pitoisuudet aiheuttavat hengenahdistusta, tokkuraisuutta ja pahoinvointia sekä tajuttomuuden noin 15 minuutin kuluessa samassa huoneessa oleskeltaessa.



Erittäin suurina pitoisuuksina hiilidioksidi syrjäyttää hapen ja voi aiheuttaa välittömän, hapenpuutteesta johtuvan tukehtumisen suljetussa huoneessa. (Työterveyslaitos 2011.)

Hiilidioksidin haitallisten ominaisuuksien vuoksi huoneeseen asennettiin Crowcon CellarSafe hiilidioksidihälytin (kuvio 13). Hälytin varmisti, ettei mahdollinen huoneilman hiilidioksidin määrän kohoaminen vahingoittaisi tilassa työskenteleviä ihmisiä. Huoneilman hiilidioksidipitoisuuden ylittäessä 1,5 % anturit laukaisivat hälytyksen ja magneettiventtiili hiilidioksidin syötössä menisi kiinni. Huoneessa oli myös kaksi ympärivuorokauden päällä olevaa vetokaappia, joihin johdettiin poistoilmaletku reaktorista. Huoneeseen asennettiin lisäksi ylijännitesuojaus.



KUVIO 13. Hiilidioksidihälyttimen anturi mittasi huoneilman hiilidioksidipitoisuutta toisen testikasvatuksen aikana

Ensimmäisessä testikasvatuksessa ei käytetty hiilidioksidia. Toisessa testikasvatuksessa käytettiin puhdasta hiilidioksidia, jota syötettiin fotobioreaktoriin tietyn väliajoin ajastetun magneettiventtiilin kautta. Syötössä kiinni oleva muoviputki oli kiinnitetty reaktorin kanteen kiinnitettyyn metalliputkeen, jonka kautta hiilidioksidi kulkeutui sisälle reaktoriin. Muoviputken ja metalliputken väliin oli kiinnitetty suodatin epäpuhtauksien

välttämiseksi. Metalliputken alapäähän oli kiinnitetty ilmastuskivi, josta hiilidioksidi pääsi pieninä kuplina kasvatusliuokseen.

### 6.3 Fotobioreaktorin pesu

Fotobioreaktori pestiin huolellisesti ennen kasvatuskokeita kontaminaatioiden välttämiseksi. Pesuun käytettiin erilaisia varrellisia harjoja, joilla puhdistettiin huolellisesti reaktori sisäpuolelta. Saumakohtiin ja nurkkiin tuli kiinnittää erityistä huomiota. Myös ulkopuoliset pinnat tuli pestä huolellisesti sekä reaktoriin asennettavat letkut tuli pestä sekä desinfioida 70 % alkoholilla sekä ulko- että sisäpuolelta.

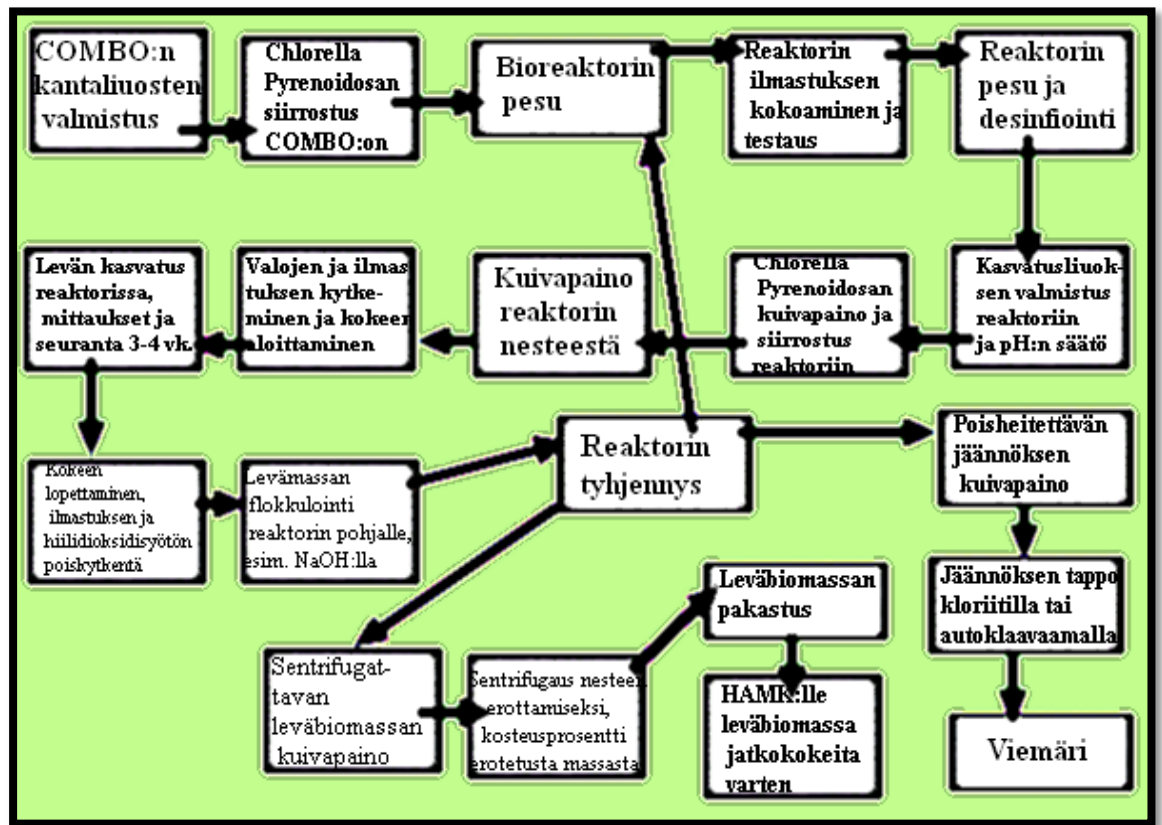
Vesi ja sähkö ovat yhdessä tappava yhdistelmä, minkä vuoksi kasvatuskokeissa oli syytä kiinnittää huomioita sähköturvallisuuteen. Reaktorin loisteputkista koostuvat valokehikot olivat avonaiset ja ilman kotelointia tai vesisuojausta, joten kokeen aikana tuli olla hyvin huolellinen, jotta vettä ei päätynyt reaktorin ulkopuolelle. Pistorasiat tuli sijoittaa mahdollisimman kauas reaktorista, eikä lamppuja saanut pitää kytkettyinä sähköverkkoon näytteenoton tai pesun aikana.

Koska Aldigan fotobioreaktori oli tehty pleksimuovista, (Polymetyylimetakrylaatti) sen desinfioimiseen ei voitu käyttää alkoholia, eikä voimakkaita liuottimia niiden haurastuttavien vaikutusten vuoksi. Reaktori pestiin vesipohjaisella BioVasan BioClean -pesuaineella, mikä oli tarkoitettu erityisesti maatalouden käyttöön.

BioClean tappaa levät ja mikrobit mutta ei sisällä liuottimia eikä alkoholeja, joten se ei vahingoita hengitysteitä, eikä imeydy ihoon. Fotobioreaktorin desinfiointiin käytettiin saman valmistajan BiodesiX tuotetta. Tuotteet valittiin käyttöön niiden biohajoavuuden sekä ihmisille, että eläimille vaarattomuuden vuoksi. Aktiivisen, leviää tappavan pinnan muodostumisen vuoksi, reaktorit piti huuhdella huolellisesti sisäpuolelta ennen käyttöä. (Biovasa 2012.)

## 7 TESTIKASVATUKSET FOTOBIOREAKTORISSA

Fotobioreaktorissa tehtiin kaksi testikasvatusta. Tarkoituksena oli testata fotobioreaktorin toimivuutta käytännössä, kehittää ilman- ja hiilidioksidin syöttöä sekä näytteenottoa. Kokeissa vertailtiin *Chlorella pyrenoidosa* -levän biomassan kasvua reaktorissa hiilidioksidin syötöllä ja ilman sitä. Ensimmäinen testikasvatus kesti 24 ja toinen 15 päivää. Ensimmäisessä testikasvatuksessa (koe 1) käytettiin ilmastusversiota 1 (kuvio 11). Toisessa testikasvatuksessa (koe 2.3) käytettiin ilmastusversiota 4 (kuvio 12). Sekä valot, että hiilidioksidin syöttö olivat molemmissa kokeissa poissa päältä 1:30 - 9:30 välisenä aikana. Molemmista kasvatuksista talteenotettu levämassa toimitettiin Hämeen ammattikorkeakoululle biokaasuntuottokokeita varten.



KUVIO 14. Kasvatuskokeen kulku aloituksesta lopputuotteiden sijoittamiseen

### 7.1 Testikasvatusten kulku ja suoritus

Ennen kasvatuksia *Chlorella Pyrenoidosa* -kanta siirrostettiin kasvamaan tiheämmäksi 4 litran kokoiseen erlenmeyerpulloon, joka sisälsi COMBO-

kasvatusliuosta. Fotobioreaktori pestiin, desinfioitiin sekä koottiin ennen kokeen aloittamista. Testikasvatus eteni kuvio 14. mukaisesti.

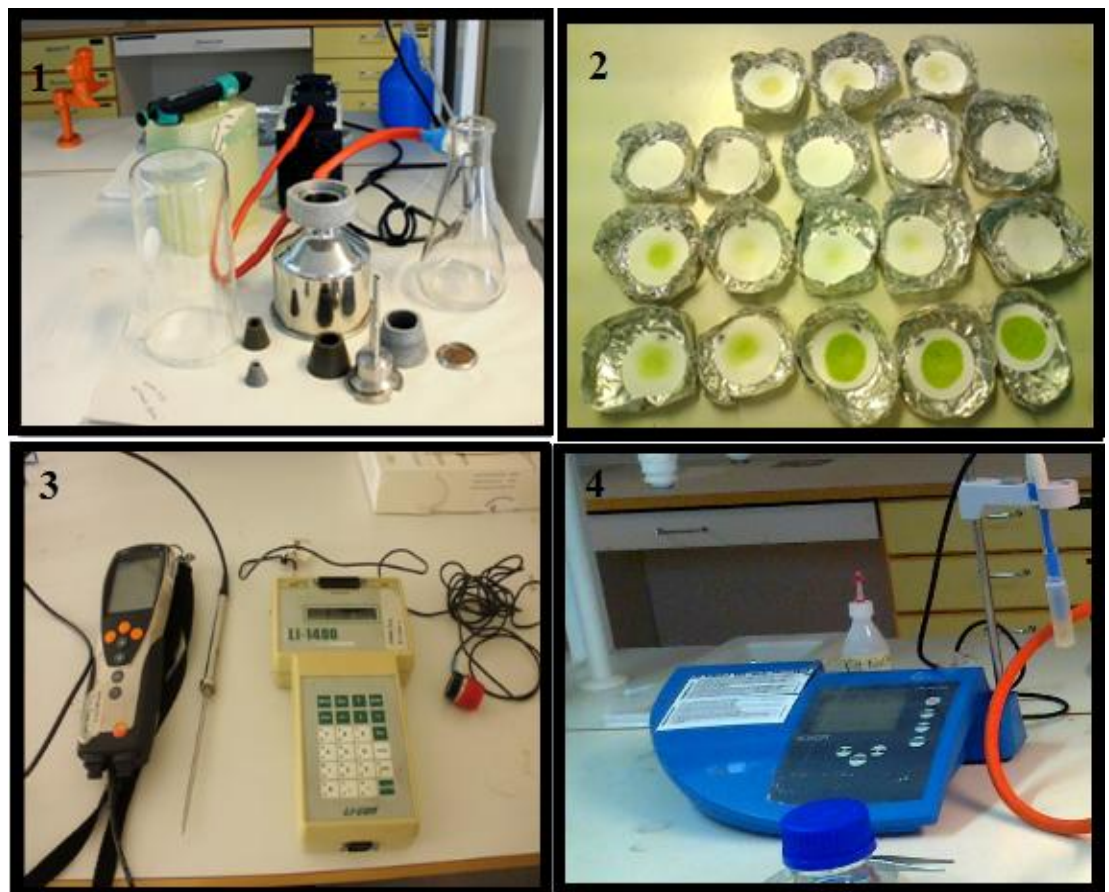
Ensimmäisessä testikasvatuksessa (koe 1) käytettiin vesijohtoveteen tehtyä COMBO-kasvatusliuosta 85 litraa ja lisäksi 1,7 litraa *Chlorella pyrenoidosa* -kasvatusta (kuivapaino 0,03 g/l). Toisessa testikasvatuksessa (koe 2.3) käytettiin vesijohtoveteen tehtyä COMBO-kasvatusliuosta 83 litraa ja 2,6 litraa *Chlorella pyrenoidosa* -kasvatusta (kuivapaino 0,06g/l). Ensimmäinen koekasvatus toteutettiin 10.4.2012 - 2.5.2012 Helsingin yliopiston ympäristötieteiden laitoksella Lahdessa, ja toinen toteutettiin 13.6.2012 - 27.6.2012 samassa paikassa.

Molemmissa kasvatuksissa seurattiin lämpötilaa, pH:ta, kuivapainoa ja sameutta. Fotobioreaktorin lämpötila mitattiin kokeessa 1 suoraan reaktorin nesteestä raottamalla reaktorin kantta. Kokeessa 2.3 reaktori suljettiin kokonaan kontaminaatoriskin ja hiilidioksidin syötön vuoksi ja lämpötilaa tarkkailtiin pH-mittari Schott CG 842B avulla näytteenoton yhteydessä. Lämpötilaa ja pH:ta mitattiin molemmissa kokeissa keskimäärin 3 kertaa päivän aikana.

Kuivapainon määrittämiseksi reaktorin alaosan palloventtiilin kautta otettiin joka arkipäivä iltapäivällä näyte, josta tehtiin kolme rinnakkaista määritystä imusuodatuksen avulla (kuvio 15). Näytettä pipetoitiin solutiheydestä riippuen 10 - 75 ml valmiiksi kuivatulle (105 °C yön yli) ja punnitulle suodattimelle. Tämän jälkeen suodattimet kuivattiin uunissa 105 °C:ssa ja jäähdytyksen jälkeen punnittiin uudelleen. Rinnakkaisista näytteistä laskettiin keskiarvo. Sameus (NTU) mitattiin kerran päivässä WTW:n TURB 555 IP -mittarilla samasta näytteestä.

Ensimmäisessä testikasvatuksessa (koe 1) mitattiin neljänä ensimmäisenä päivänä valonläpäisevyyttä LI-COR:n Li-1400 -dataloggerilla. Fotobioreaktoriin määriteltiin kolme mittauspistettä valonläpäisevyyden mittausta varten. Ensimmäinen (1) mittauspiste sijaitsi reaktorin vasemmassa yläkulmassa lähellä pintaa, toinen (2) täysin keskellä, ja kolmas (3) oikeassa alanurkassa. Mittaushetkellä mitattavan puolen reaktorin valo oli kytkettynä pois päältä ja vastakkaisen puolen valo oli päällä.

Testikasvatuksessa 2.3 reaktoriin siirrostettujen levien annettiin kasvaa viisi päivää ennen hiilidioksidin syötön aloittamista. Hiilidioksidipullo kytkettiin ajastettuun magneettiventtiiliin, joka päästi hiilidioksidia reaktoriin kahden tunnin välein 15 minuutin pulsseina seitsemän kertaa vuorokauden aikana. Hiilidioksidin syöttö oli yön ajan pois päältä. Molemmista koekasvatuksista otettiin lisäksi päivittäin näytteet, jotka säilöttiin happamalla lugolin liuoksella myöhempiä mahdollisia mikroskopointeja varten sekä 3 - 4 leväbiomassanäytettä/koekasvatus mahdollisia myöhempiä lipidianalyyskejä varten. Näiden näytteiden analyyskejä ei sisällytetty kuitenkaan tähän opinnäytetyöhön.

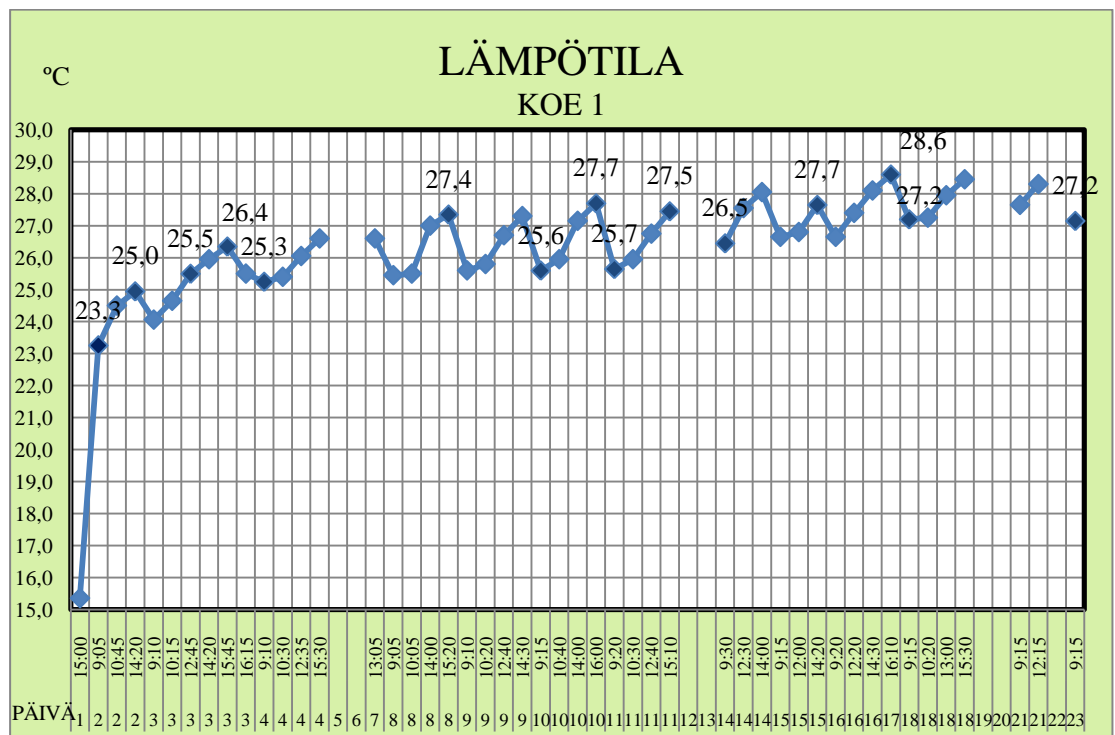


KUVIO 15. 1. testikasvatusten imusuodatuslaitteisto, 2. imusuodatuslaitteistolla suodatettuja kuivapainonäytteitä, 3. lämpötilan ja valonläpäisevyyden mittarit, 4. pH-mittari

## 7.2 Testikasvatusten tulokset

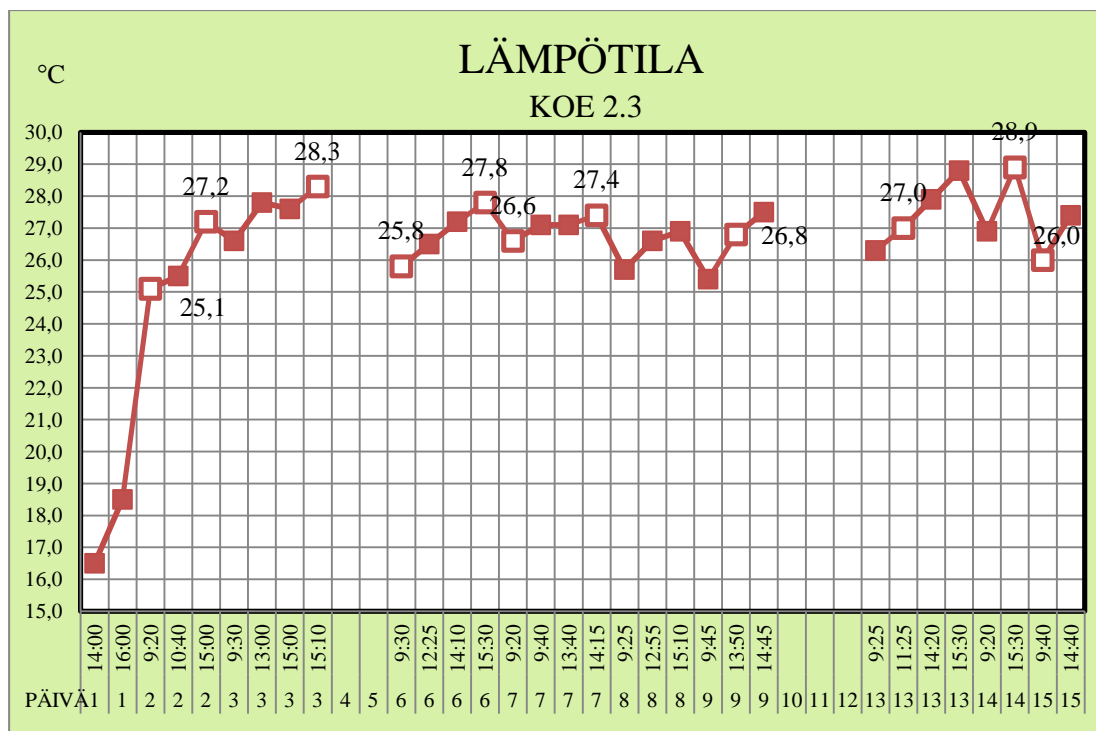
Ensimmäinen testikasvatus (koe 1) onnistui hyvin. Ainoastaan ilmastuskivien tukkeutuminen toisen kasvatusviikon kohdalla hankaloitti kasvatusta. Toinen testikasvatus onnistui vasta kolmannella yrittämällä (koe 2.3). Toista koetta edelsi kaksi epäonnistunutta koetta, kokeet 2.1 ja 2.2. Näiden kokeiden levät kuolivat muutamassa päivässä, todennäköisesti liian voimakkaan hiilidioksidisyötön vuoksi. Kokeessa 2.1 hiilidioksidia syötettiin jatkuvana syöttönä ja kokeessa 2.2 hiilidioksidia syötettiin tunnin välein viidentoista minuutin ajan.

Ensimmäisessä testikasvatuksessa (koe 1) lämpötila kasvoi tasaisesti koko kokeen ajan. Kuvista 16 näkyy, että lämpötila pysyi kokeen alussa 25 - 26 asteessa ja lopussa 27 - 28 asteessa niin, että mitattu maksimilämpötila 28,6 °C mitattiin 17. kasvatuspäivänä.



KUVIO 16. Lämpötila ensimmäisen testikasvatuksen (koe 1) aikana

Myös kokeen 2.3 mittausten mukaan lämpötila nousi hieman kokeen loppua kohden. Lämpötila pysyi pääosin 26 - 28 °C:ssa, tosin 14. päivänä kokeessa saavutettu maksimilämpötila oli 28,9 °C (kuvio 17).



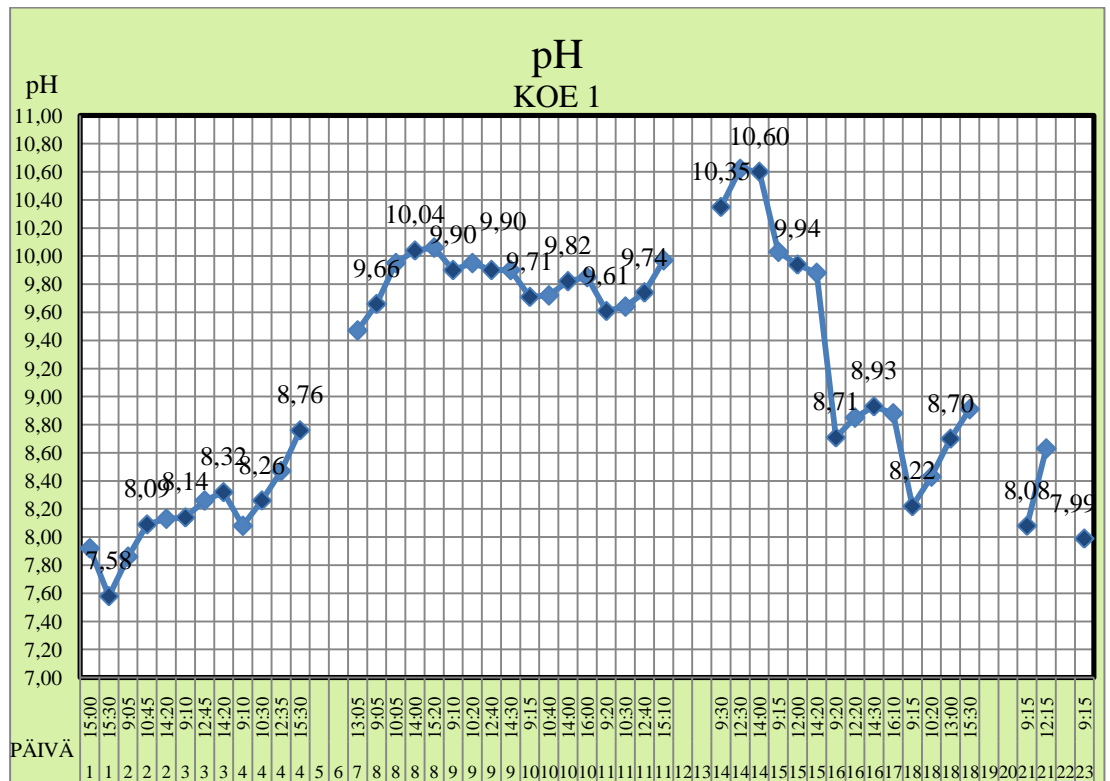
KUVIO 17. Lämpötila toisen testikasvatuksen (koe 2.3) aikana

Ensimmäisen testikasvatuksen (koe 1) ensimmäisenä päivänä pH säädettiin vetykloridihapon (HCl) avulla 7,58:aan, ja jo viikon aikana pH ylitti arvon 9. pH:n maksimihuippu saavutettiin 14. päivän tietämällä, jolloin se oli 10,62 (kuvio 18). Tämän jälkeen pH alkoi laskea nopeasti ja jo seuraavana päivänä pH oli laskenut 7,4:ään iltapäivään mennessä. Tämän jälkeen pH pysyi 7,99 ja 8,93:n välillä loppukokeen ajan.

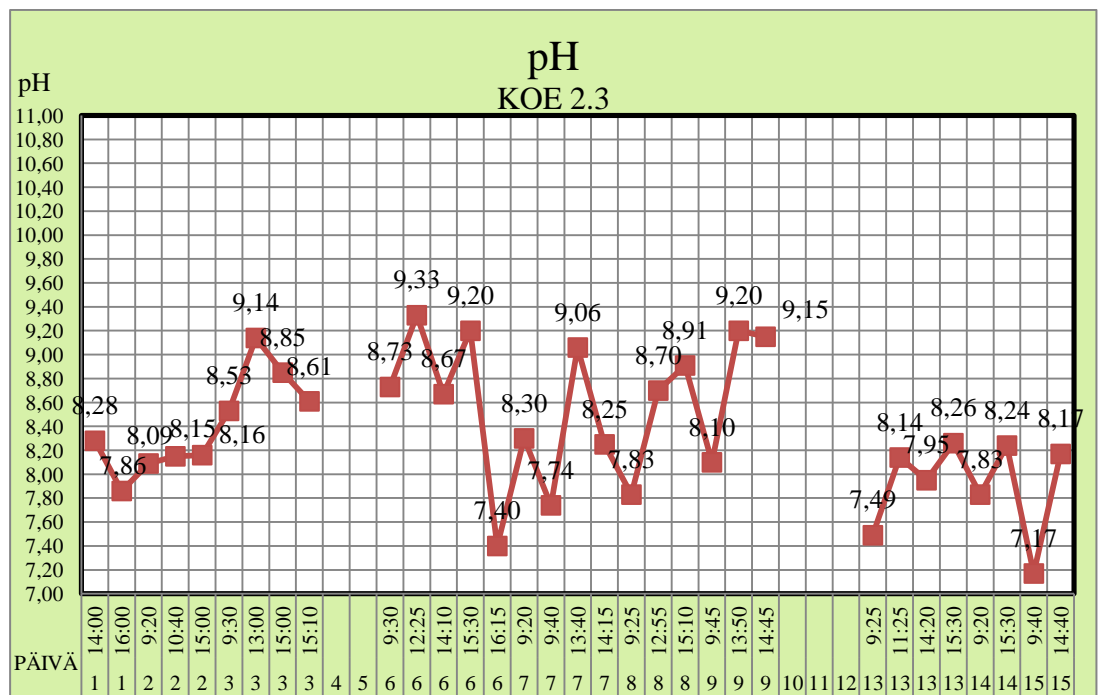
Toisessa testikasvatuksessa (koe 2.3) pH nousi jo kolmantena päivänä 9,14, joten sitä laskettiin vetykloridihapon (HCl) avulla 8,61:een. Hiilidioksidin syöttö aloitettiin viidentenä päivänä, jonka vaikutuksesta pH sahasi kokeessa 7,17 ja 9,33:n välillä (kuvio 19). On mahdollista, että pH kävi mitattujen lukemien ulkopuolellakin, sillä kello 16:00 jälkeen ja ennen kello 9:00 ei voitu saada dokumentoitavia mittaustuloksia kokeista. Hiilidioksidia syötettiin kahden tunnin välein, joten pH pääsi nousemaan syöttöjen välillä. Päivällä pH vaihteli ajoittain hiilidioksidin syötön takia nopeastikin 7,5 ja 9:n välillä. Esimerkiksi kuudentena päivänä kello 15:30 reaktorin pH oli 9,2 ja kello 16:15 reaktorin pH oli laskenut 7,4:n. Päivinä 8 ja 9 pH pysyi korkeana ja vaihteli 7,83:n ja 9,2:n välillä. Päivinä



13 - 15 pH laski 7,14 ja 8,37:n välille hiilidioksidin syötön voimakkuuden pienentämisestä huolimatta.



KUVIO 18. Kokeessa 1 pH nousi 10,6:een ensimmäisen kahden viikon aikana



KUVIO 19. Kokeessa 2.3 pH sahasi tasaisesti 7,17 ja 9,33:n välillä



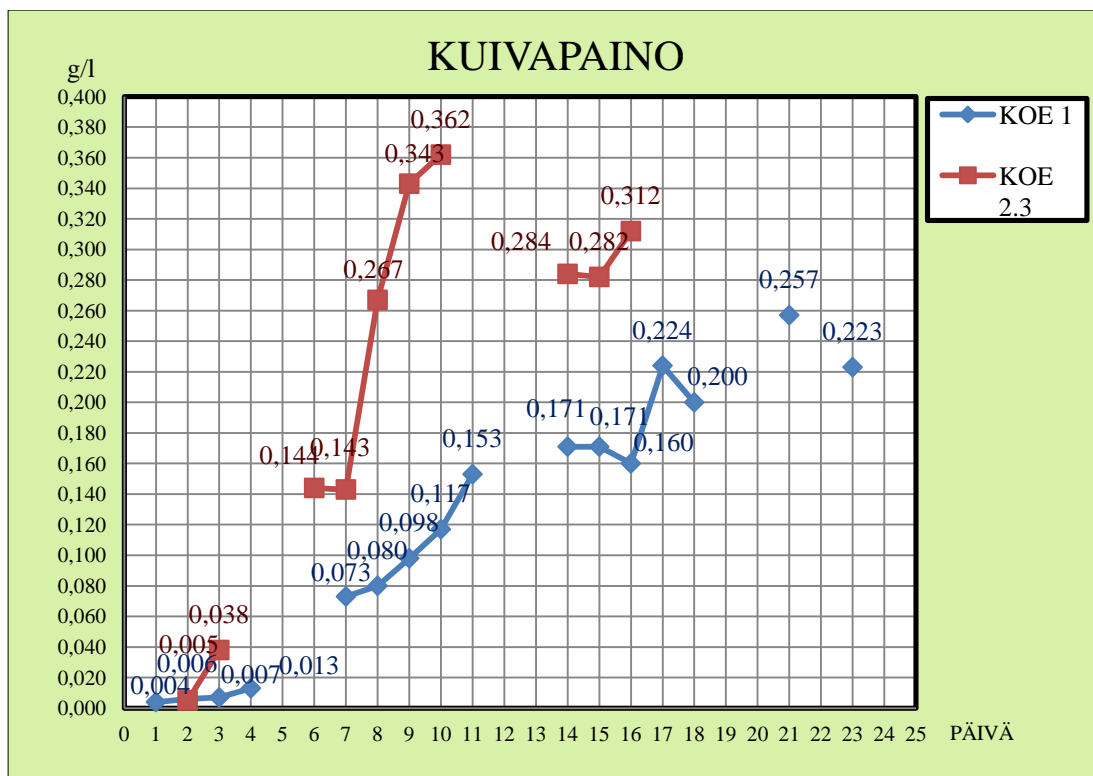
Teknisten ongelmien vuoksi fotobioreaktorin valonläpäisevyyttä ( $\mu\text{A}/\text{min}$ ) mitattiin vain ensimmäisen testikasvatuksen aikana. Taulukosta 2 selviää kuitenkin, että massa kasvoi mitattavissa kohdissa tasaisesti päivittäin, sillä valon läpäisevyys väheni. Keskimääräisesti valon läpäisevyys oli suurinta reaktorin puolella välissä ja pienintä pohjalla.

TAULUKKO 2. Valonläpäisevyys kolmessa mittauspisteissä päivinä 1 - 4 (koe 1)

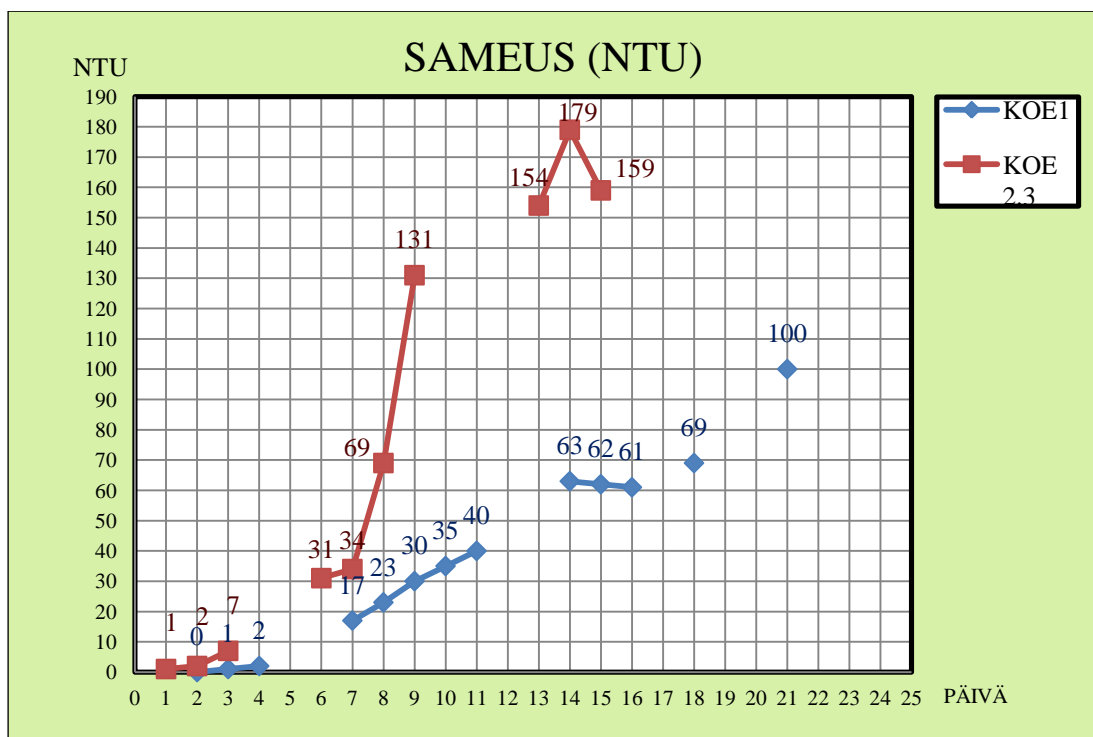
Koe 1. Valon läpäisevyys reaktorissa $\mu\text{A}/\text{min}$			
päivä	Piste 1	Piste 2	Piste 3
1	85,40	91,50	57,00
2	87,76	91,16	56,26
3	84,60	89,05	54,63
4	74,80	76,30	47,46

Ensimmäisen testikasvatuksen (koe 1) ensimmäisenä päivänä reaktorin kuivapaino oli 0,004 g/l, ja 14. päivänä se oli 0,17 g/l. Pienistä notkahduksista huolimatta kuivapaino nousi tasaisesti ja kokeessa saavutettu maksimikuivapaino oli 0,26 g/l kokeen 21. päivänä (kuvio 20). Sameus seurasi kuivapainon tuloksia, ainakin osittain. Sameudessa nähtiin myös pieni notkahdus 15. ja 16. päivän kohdalla (kuvio 21). Kasvatuksen alussa sameus oli 0,3 NTU ja 14. päivän tienoilla se saavutti 63 NTU:n lukemat. Notkahduksen jälkeen sameus kohosi nopeasti 100 NTU:n lukemiin.

Toisen testikasvatuksen (koe 2.3) toisen päivän kuivapaino oli 0,005 g/l, ja maksimitulos saavutettiin kymmenennen päivän kohdalla, jolloin se oli 0,36 g/l (kuvio 20). Kuivapainon kehitys oli nopeaa testikasvatuksen 7 ja 10:n päivän välillä, minkä jälkeen kuivapainon arvo notkahti 0,28 g/l, mutta alkoi uudelleen kasvaa kun hiilidioksidin syötön voimakkuutta pienennettiin. Sameus seuraili kuivapainon tuloksia kokeessa 2.3. Alussa sameus oli noin 1 NTU:n luokkaa ja maksimillaan se oli 179 NTU (kuvio 21). Lopussa näkyi pieni notkahdus sameudessa.



KUVIO 20. Kasvatuskokeiden kuivapainot; kokeessa 1 kuivapaino oli parhaimmillaan 0,26 g/l ja kokeessa 2.3 0,36 g/l



KUVIO 21. Kasvatuskokeiden sameus; Kokeessa 2.3 saavutettiin jopa 179 NTU:n lukemia

### 7.3 Testikasvatusten tulosten tarkastelu

Molemmissa testikasvatuksissa lämpötila kasvoi tasaisesti koko kokeen ajan. Tämä johtui mahdollisesti siitä, että näytteenottojen ja haihtumisen takia neste väheni noin 1,5 dl:n päivävauhdilla fotobioreaktorista. Reaktorin nesteeseen johdettiin ilmaa samasta, alle kymmenen neliömetrin kokoisesta huoneesta, jossa itse reaktori oli. Tämän takia massa pääsi jäähtymään ainoastaan yön aikana, silloin kun reaktorin valot eivät olleet päällä.

Vaikka valon läpäisevyyttä mitattiin vain neljä kertaa ensimmäisen testikasvatuksen aikana (koe 1), mittaustuloksista voidaan päätellä, ettei *Chlorella pyrenoidosa* -levä pysynyt tasaisena reaktorissa. Levä vajosi sekoituksesta huolimatta pohjalle, mikä saattoi vaikuttaa kuivapainon tuloksiin, sillä näytteet otettiin reaktorin pohjaventtiilin kautta. Kuivapainonäytettä ei kuitenkaan koskaan otettu aamusta ja ennen sitä reaktorista otettiin useampi näyte pH:n tarkastelua varten. Tämän vuoksi voidaan olettaa, että isompia sakkaantumisia ei joutunut kuivapainon näytteisiin. On todennäköistä, että samaa levien vajoamista pohjalle, tapahtui myös kokeen 2.3 aikana. On kuitenkin huomioitava, että testikasvatusten ilmastuslaitteisto oli hiukan toisistaan poikkeava, mikä vaikuttanee testikasvatusten vertailtavuuteen.

Koska pH:ta ei kontrolloitu ensimmäisessä kasvatustestauksessa hiilidioksidin tai vetykloridihapon (HCl) avulla, hiilidioksidia kuluttava levämassan kasvu sekä ilmastus nostivat kasvatusliuoksen pH:ta kokeen aikana.

Kasvatusliuoksen pH:seen saattoi vaikuttaa ensimmäisen testikasvatuksen aikana myös ilmastuskivien tukkeutuminen 14. kasvatuspäivänä. Tukkeutumisen seurauksena levämassa vajosi, ja kunnon kiertoa pimeiltä alueilta valoisille ei syntynyt. Kasvatusliuoksen heikko kierto saattoi vaikuttaa myös kaasujen vaihtoon nesteessä. Ilmastuskivien vaihdon jälkeen pH laski noin 8:aan. pH:n lasku saattoi johtua kuitenkin enemmän levien kasvun (yhteyttämisen) vähenemisestä.

Korkea pH näkyi myös pienenä notkahduksena kuivapainossa kokeen 1 aikana. Toisaalta kuivapainon notkahdus esimerkiksi ravinteiden loppuessa eksponentiaalisen kasvun vaiheen jälkeen on tavallisilla mikrolevillä.

Notkahduksen jälkeen kuivapaino nousi, mikä saattoi johtua myös kontaminaatioista, jotka joutuivat reaktoriin ilmastuskivien vaihdon yhteydessä. Koe 1 osoitti, että pH nousee ilman kontrolloimista kasvatuksen aikana liian emäksiseksi leville.

Ensimmäisessä testikasvatuksessa (koe 1) pH oli kokeen alussa 7,58 ja maksimi, 10,6 saavutettiin kokeen puolivälissä. Toisessa testikasvatuksessa (koe 2.3) pH pysyi paremmin kontrollissa kuin ensimmäisessä vaihdellen 7,17 ja 9,33:n välillä. Toisen testikasvatuksen pH vaihteli nopeammin pienemmällä aikavälillä kuin ensimmäisen testikasvatuksen. Nopea vaihtelu saattoi aiheuttaa leville ajottain shokkeja, sillä esimerkiksi 13. päivän jälkeen oli havaittavissa hieman levien flokkaantumista, mitä ei ensimmäisessä testikasvatuksessa esiintynyt.

Tarkastellessa molempien testikasvatusten kuivapainon tuloksia (kuvio 20) selviää, että kokeessa 2.3 biomassan saanto oli suurempi. Toisen kasvatuskokeen puolet suurempi siirros myös nopeutti kasvatuksen maksimikuivapainon saavuttamista. Toisessa testikasvatuksessa kuudennen päivän hiilidioksidin syötön aloitus pysäytti eksponentiaalisen kasvun hetkeksi. Levät sopeutuivat uusiin olosuhteisiin päivässä ja kasvu alkoi uudelleen.

Kun testikasvatus eteni kymmenenteen päivään, testikasvatusten kuivapainon ero oli kasvanut 50 %:sta 67,7 %:iin, jolloin kokeen 1 kuivapaino oli 0,117 g/l ja kokeen 2.3 0,362 g/l. Tästä voidaan päätellä, että sopiva määrä hiilidioksidia auttoi levien kasvua reaktorissa nopean kasvun vaiheen aikana. Toisaalta taas 16. päivän tienoilla, kun koe 2.3 lopetettiin, ero oli vain 48,7 % koska kymmenennen päivän jälkeen kokeen 2.3 kuivapaino romahti kahdeksannen kasvatuspäivän lukemiin. On myös mahdollista, että olosuhteiden nopea vaihtelu hillitsi levien kasvua tai aiheutti levien flokkaantumista. Kuivapainon laskusta huolimatta levät eivät välttämättä olleet kuolleet, vaan osittain flokanneet reaktorin pohjalle. Kuivapainon laskun vuoksi hiilidioksidin syötön voimakkuutta pienennettiin kokeessa 2.3, minkä jälkeen kuivapaino lähti uudelleen nousuun.

Sameus saavutti myös suurempia lukemia toisessa testikasvatuksessa (koe 2.3) (kuvio 21). Ensimmäisen testikasvatuksen 14. päivän jälkeiset korkeat lukemat

(100 NTU) johtuivat todennäköisesti enemmän kontaminaatioista kuin levämassan yhtäkkisestä kasvusta.

Testikasvatukset osoittivat mielestäni selkeästi ainakin yhden asian; Hiilidioksidi auttaa hieman levien kasvua reaktorissa, mutta siinä on myös omat ongelmansa, jos levä ei ole eksponentiaalisen kasvun vaiheessa. Liian suuri hiilidioksidin syöttö voi aiheuttaa enemmän haittaa kuin hyötyä verrattuna kasvatukseen ilman hiilidioksidia. Sopivassa määrin ja oikean aikaan syötettäessä se voi kuitenkin parantaa kasvua.

## 8 LEVÄBIOMASSAN KERÄYS FOTOBIOREAKTORISTA

Testikasvatuksissa testattiin kasvatuksen lisäksi leväbiomassan keräämistä flokkuloinnin ja sentrifugauksen avulla. Tarkastelussa oli erityisesti painovoimasta johtuva luontainen vajoaminen sekä levien flokkautuminen pH:n säädön avulla. Tarkoituksena oli edellä mainittujen keinojen avulla erottaa neste ja kiinteä aines toisistaan, ettei koko 85:ttä litraa tarvitsisi sentrifugata jatkokäsittelyä varten.

Ensimmäisen testikasvatuksen aikana selvisi, ettei luontainen vajoaminen ollut tarpeeksi nopeaa. Koska kuudessa päivässä ei tapahtunut selkeää vajoamista, fotobioreaktorin massan flokkuloimiseksi nesteen pH nostettiin natriumhydroksidin avulla.

Ennen fotobioreaktorin pH:n nostoa 500 ml kasvatuspulloissa esitestattiin kuinka hyvin flokkeja syntyy 2 mol Natriumhydroksidilla (NaOH). Flokkeja ei syntynyt heti, mutta seuraavana aamuna kasvatuspullojen levä oli flokannut pohjalle. Esitestauksessa kasvatuspullon pH nostettiin 11,90, ja samaa pitoisuutta kokeiltiin reaktoriin.



KUVIO 22. Ensimmäisen kasvatustestauksen keräys, kuva fotobioreaktorista ennen ja jälkeen NaOH:n lisäämisen

Ensimmäisessä kasvatustestauksessa (koe 1) fotobioreaktoriin laitettiin 4,7 dl (2 M) natriumhydroksidia sekoittaen nestettä samalla ilmastuksen avulla. Massaa sekoitettiin noin kymmenen minuutin ajan, minkä jälkeen ilmastus suljettiin. Seuraavana aamuna reaktorin massa oli flokannut, ja levän keräys prosessissa päästiin etenemään reaktorin tyhjennykseen ja sentrifugaukseen (kuvio 22).

Seuraavaksi fotobioreaktori tyhjennettiin lappomenetelmän avulla. Sentin paksuinen letku, jonka päässä oli suppilo, täytettiin vedellä ja sen molemmat päät suljettiin tiiviisti käsin. Tämän jälkeen letkun toinen pää upotettiin reaktoriin (kuvio 23) ja pinnalla olevan ylimääräisen nesteen annettiin valua lattialla olevaan sankoon kloriitilla tapettavaksi. Tapettavaksi menneen nesteen kuivapainopitoisuus oli 0,017 g levää litraa kohden.



KUVIO 23. Kalle Valkonen tyhjentää reaktoria lappomenetelmän avulla

Fotobioreaktorin pohjalle jäi 10,3 litraa leväpitoista nestettä, mikä sekoitettiin ilmastuksen avulla. Sekoitettu neste tyhjennettiin kahteen isoon erlenmeyerpulloon. Talteen otetun nesteen kuivapainopitoisuudet olivat 1,6 g/l ja 2,3 g/l.

Seuraavaksi neste sentrifugattiin. Sentrifugiin mahtui kerrallaan neljä 0,5 litran purkkia, jotka täytettiin nesteellä ja sentrifugattiin (15 min/15 °C/ 2500 kier./min.). Sentrifugauksen seurauksena purkin pohjalle kerääntyi tiivis massa (kuvio 24) ja pinnalle kirkas supernatantti. Ylimääräinen kirkas neste kaadettiin pois ja purkit täytettiin uudelleen ja laitettiin takaisin sentrifugiin.



KUVIO 24. Purkin pohjalla tiivis levämassa, taustalla fuugattu supernatantti

Tällä tavoin pohjalle kerääntyi useamman peräkkäisen sentrifugauksen päätteeksi tiivis levämassa, joka kerättiin kertakäyttölusikoilla 50 ml:n falcon-putkiin. 0,5 litran sentrifugauspurkit huuhdeltiin tislatulla vedellä ja neste kaadettiin falcon-putkiin tasaisesti niin, että jokaisessa putkessa oli 45 ml levämassaa. Putket (4) laitettiin uudelleen sentrifugiin, jonka jälkeen ylimääräinen neste kaadettiin vielä kerran pois. Putkiin kerääntyi lopulta 135 g tiivistä levämassaa, joka pakastettiin ja vietiin myöhemmin HAMK:iin jatkokokeita varten.



Toisessa kasvatustestauksessa (koe 2.3) levän keräys ei sujunut yhtä hyvin. Kerättävä leväpitoinen liuos oli edeltävää koetta solumäärällisesti tiheämpää, joten sama määrä natriumhydroksidia ei riittänyt levien flokkaamiseen.

Ensin fotobioreaktoriin lisättiin 4,3 dl (2M) natriumhydroksidia, jonka seurauksena pH nousi 11,93. Koska näkyviä muutoksia ei ilmennyt, fotobioreaktoriin lisäiltiin natriumhydroksidia muutaman päivän ajan. Lopullisen flokkauksen aikaansaamiseksi tarvittiin 5,6 dl 2 mol/l natriumhydroksidia ja 4 dl 3 mol/l natriumhydroksidia. Flokkautuessa fotobioreaktorin pH oli 12,14.

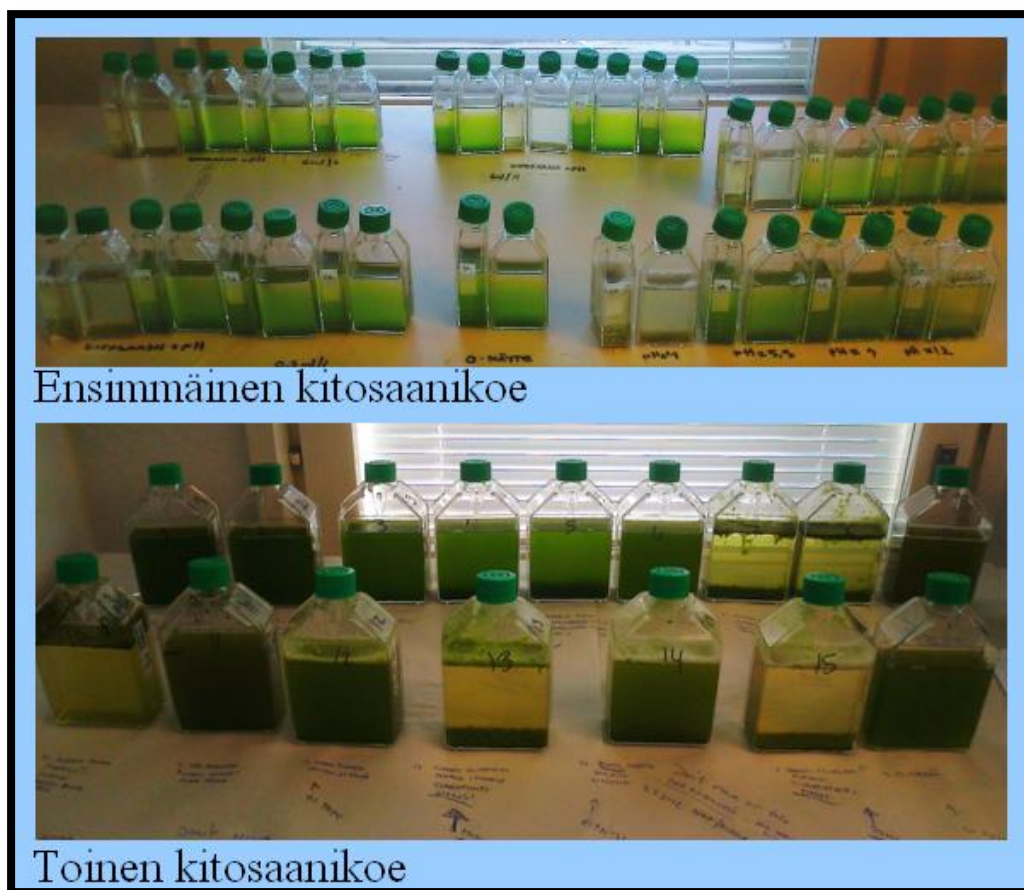
Toisen kasvatustestauksen leväbiomassan keräys osoittautui ongelmalliseksi, koska natriumhydroksidia kului paljon ja flokkulointi pH:n säädön avulla osoittautui epäkäytännölliseksi menetelmäksi. Ongelmia tuotti se, että korkeassa pH:ssa nestettä sitoutui enemmän leväbiomassaan ja vaikutti näin sen fuugattavuuteen. Toisen kasvatustestauksen (koe 2.3) leväbiomassan sentrifugaus oli haastavaa, eikä 15 minuuttia sentrifugissa riittänyt. Sentrifugauksen jälkeen levämassaan jäi paljon nestettä, eikä tiivistä kerrosta syntynyt purkin pohjalle. Levämassasta erotettu supernatantti ei ollut kirkasta, vaan kirkkaanvihreää. Toisen testikasvatuksen talteenotetun leväbiomassan kiintoainepitoisuus oli vain 7 %. Massaa saatiin talteen kuitenkin kasvatuskokeesta neljä falcon putkea eli 146 g.

## 9 LEVÄBIOMASSAN FLOKKULOINTITESTAUS KITOSAANIN JA pH:N SÄÄDÖN AVULLA

Testikasvatukseen liittyen tehtiin kaksi flokkulointikoetta kitosaanin ja pH:n säädön avulla, koska pelkkä pH:n säätö osoittautui hitaaksi ja epäluotettavaksi menetelmäksi. Tarkoituksena oli selvittää kuinka hyvin kitosaani flokkuloi *Chlorella Pyrenoidosa* -levää EG ja COMBO -kasvatusliuoksissa eri pH -pitoisuuksissa.

Jauhemainen kitosaani liuotettiin natriumhydroksidin (0,5 M) avulla nestemäiseksi ja sekoitettiin tislattuun veteen niin, että siitä muodostui 1 % kantaliuos kokeita varten. Ensimmäisessä kitosaanikokeessa testattiin EG-kasvatusliuoksessa kasvanutta *Chlorella Pyrenoidosa* -levää pienillä, alle 10 ml/l kitosaanipitoisuuksilla eri pH:ssa. Kokeessa selvisi, että pH 4 flokkuloi parhaiten, mutta tappaa samalla levät. Korkea pH flokkuloi matalia pitoisuuksia paremmin, mutta ei riittävällä nopeudella. EG-kasvatusliuoksessa kasvaneen levämassan puskurointikyky oli erittäin voimakas, ja kitosaanin 0,5 - 10 ml / litra pitoisuuksilla ei saatu riittävän selkeää flokkautumista aikaiseksi. Koska kokeessa ei saavutettu tarpeeksi selkeitä tuloksia kitosaanin suhteen, koe toistettiin suuremmilla kitosaanipitoisuuksilla.

Toisessa kitosaanikokeessa oli 16 erilaista 200 ml kasvatuspulloa, joista 11:sta oli modifioidussa Combossa kasvatettua *Chlorella Pyrenoidosa* -levää, jonka pH oli valmiiksi nostettu 11,9. COMBO-kasvatusliuosta oli modifioitu siten, että kasvatusliuoksen natriumnitraattipitoisuus oli 10-kertainen ohjeenmukaiseen ja dinatriumfosfaattipitoisuus oli 13-kertainen ohjeeseen verrattuna. Viisi pulloista sisälsi solumäärältään rikasta EG-kasvatusliuoksessa kasvanutta *Chlorella Pyrenoidosaa*, jonka pH oli 8,13. Leväpulloihin säädettiin pH, lisättiin kitosaaniliuosta ja sekoitettiin voimakkaasti tasoravistelijassa (15min/200kierrosta/min). Tarkemmat kuvaukset koepullojen sisällöstä löytyvät taulukosta 3.



KUVIO 25. Ensimmäinen ja toinen flokkauskoe kitosaanin ja pH:n säädön avulla

Toisessa kitosaanikokeessa selvisi (kuvio 25), että orgaaninen EG-kasvatusliuos ja epäorgaaninen COMBO-kasvatusliuos käyttäytyvät eritavalla. Kokeen tulosten perusteella EG-liuos tarvitsee isompia pitoisuuksia kitosaania kuin COMBO-liuos toimiakseen yhtä tehokkaasti. Kitosaani toimi parhaiten pH 7:ssä, mutta vaati COMBO-kasvatusliuoksessa 10 ml/l pitoisuuden toimiakseen kunnolla. Todennäköisesti myös pienemmät, esimerkiksi 5 ml/l pitoisuudet antaisivat jo tuloksia, mutta 1ml/l oli liian pieni pitoisuus levämassan flokkaamiseen kasvatuksissa. Parhaiten kokeessa toimivat pullo numero 7 ja 8 (kuvio 26), jossa pH oli lähellä 7 ja kitosaania oli käytetty 10 ml/l ja 20 ml/l. Pulloilla ei kuitenkaan ollut merkittävää eroa keskenään, joten 10 ml/l pitoisuus oli riittävä parhaaseen mahdolliseen flokkaukseen.



KUVIO 26. Toisessa kitosaanikokeessa pullot 7 ja 8 flokkuloivat muita paremmin

EG-kasvatusliuoksessa kitosaani toimi parhaiten pH 7:ssä, mutta kitosaania tarvitsi käyttää 50 % (>20 ml/l) enemmän kuin Combo-kasvatusliuoksissa päästäkseen samoihin tuloksiin.

Kitosaanikokeen jälkeen seuranneessa fotobioreaktorin leväbiomassan keräyksessä varmistui, että COMBO-kasvatusliuoksessa kasvatettu *Chlorella Pyrenoidosa* -levä flokkasi alle 10 ml/l pitoisuuksissa. Jo 5 ml/l kitosaanipitoisuus sai aikaan nopean ja tehokkaan flokkauksen.

TAULUKKO 3. Koepullojen sisältö ja flokkuloinnin toimivuus toisessa kitosaanikokeessa

Pullon nro.	Sisältö:	Lopputulokset:	Johtopäätös:
1.	Reaktorin (COMBO) nollanäyte, pH 11,9	Ei muutosta.	Ei toimi
2.	Reaktori (COMBO) pH 11,9 + kitosaani 1 ml/l (0,2ml/200ml)	Havaittavissa pientä vajoamista pohjalle, mutta ei selkeää muutosta.	Ei toimi
3.	Reaktori (COMBO) pH 11,9 + kitosaani 10ml/l (2ml/200ml)	Havaittavissa pientä vajoamista pohjalle, seuraavana päivänä parempi tulos kuin pullo 1:ssä ja 2:ssä.	Ei toimi
4.	Reaktori (COMBO) pH 11,9 + kitosaani 20 ml/l (4ml/200ml)	Flokkasi pohjalle, mutta ei radikaalisti. Hiukan parempi flokkaustulos kuin pullo 3:ssa.	OK
5.	Reaktori (COMBO) pH 11,9 + kitosaani 40ml/l (8ml/200ml)	Puolet enemmän flokkeja, kuin pullo 4:ssa. Levällä ei selvää rajaa supernatantin kanssa.	OK
6.	Reaktori (COMBO), pH:n lasku 7,04 +kitosaani 1ml/l (0,2ml/200ml)	Ei muutosta.	Ei toimi
7.	Reaktori (COMBO), pH:n lasku 7,04 +kitosaani 10ml/l (2ml/200ml)	Flokkeja muodostui sekä pinnalle, että pohjalle. Kerrosten väliin jäi kirkas supernatantti (katso kuvio 26).	Toimii
8.	Reaktori (COMBO), pH:n lasku 7,04 +kitosaani 20 ml/l (4ml/200ml)	Flokkeja muodostui sekä pinnalle, että pohjalle. Kerrosten väliin jäi kirkas supernatantti (katso kuvio 26).	Toimii
9.	Reaktori (COMBO), pH:n lasku 5,68 +kitosaani 1ml/l (0,2ml/200ml)	Levän väri muuttui rusehtavaksi. Flokkasi hiukan, mutta levämassa kärsi todennäköisesti matalasta pH:sta johtuen.	Ei toimi
10.	Reaktori, pH:n lasku 5,68 +kitosaani 10ml/l (2ml/200ml)	Flokkasi pääosin pinnalle. Levämassa hajosi pieniksi hipuiksi ja keveni. Levä todennäköisesti kärsi toimenpiteestä.	OK
11.	Reaktori (COMBO), pH:n lasku 5,68 +kitosaani 20 ml/l (4ml/200ml)	Väri ruskeampaa kuin muissa, flokkasi hiukan pinnalle ja pohjalle. Levä todennäköisesti kärsi toimenpiteestä.	Ok/Ei toimi
12.	EG pH 7,04 + kitosaani 20ml/l	Flokkeja hieman pohjalla, mutta ei tarpeeksi. Seuraavana päivänä parempi flokkaustulos.	Ok
13.	EG pH 7,04 + kitosaani 40ml/l	Flokkeja muodostui välittömästi sekä pinnalle että pohjalle, väliin jäi kirkas supernatantti.	Toimii
14.	EG pH 5,68 + kitosaani 20ml/l	Hiukan flokkeja pullon pohjalla, mutta ei välitöntä ja kunnollista flokkaustulosta. Seuraavana päivänä oli kuitenkin flokannut.	OK
15.	EG pH 5,68 + kitosaani 40ml/l	Flokkasi välittömästi pääosin pohjalle, muodosti tiiviin ja selkeän kerroksen levän ja supernatantin välille.	Toimii
16.	EG nollanäyte pH 8,13	Ei näkyvää muutosta.	Ei toimi

## 10 LEVÄBIOENERGIATUOTANNON VAHVUUKSIA JA HAASTEITA

Mikrolevät ovat potentiaalinen joukko kolmannen sukupolven biopolttoaineiden raaka-aineiksi. Oikein tuotettuna ne voivat antaa ympäristöystävällisen ja kestävän vaihtoehdon fossiilisille polttoaineille. Leväbiomassan sopeutuvaiset kasvuvaatimukset sekä sen hyödynnettävyys myös muihin tarkoituksiin, kuten jäteveden puhdistukseen, ruuan, pigmenttien ja vitamiinien tuotantoon, voivat avata uusia kestäviä mahdollisuuksia tulevaisuudessa. Potentiaalistaan huolimatta, leväbiopolttoaineilla on ongelmia, jotka vaativat vielä ratkaisuja, jotta tuotanto olisi taloudellisesti kannattavaa.

Levien kasvattaminen avoimissa kasvatussesteimeissä on edullista, mutta kontaminaatioiden, ja matalan kuivapainonsa takia tehotonta. Suljetuissa kasvatusjärjestelmissä leväkanta saadaan pidettyä puhtaampana ja tiheämpänä, mutta energiakustannukset nousevat huomattavasti, minkä vuoksi taloudellinen kannattavuus ja ympäristöystävällisyys kärsivät.

Leväpohjaisen biopolttoaineen hiilijalanjälki ei ole itsestään selvästi fossiilisia polttoaineita pienempi, vaan se riippuu pitkälti sen tuotantotavasta.

Tuotantotapojen, kuten levän keräyksen ja kasvatusmenetelmän valinnalla on huomattava merkitys polttoaineen ympäristöystävällisyyteen. Levien kasvatus suljetuissa putkimaisissa reaktoreissa voi syödä jopa kolme kertaa enemmän energiaa, kuin fossiilisten polttoaineiden tuotanto. Esimerkiksi pahimmillaan bioreaktorimenetelmällä tuotetun leväpolttoaineen hiilijalanjälki voi olla jopa 320 grammaa megajoulea kohden kun fossiilisella dieselöljyllä se on 86 grammaa. Avoaltaassa kasvatetun levän hiilijalanjäljen on laskettu olevan noin 19 grammaa megajoulelta. Allasviljelyn tasokkuus ei ole kuitenkaan bioreaktoriviljelyn tasoa. Tulevaisuudessa on mahdollista pienentää bioreaktoreiden sekoituksesta johtuvaa korkeaa hiilijalanjälkeä tekniikkaa kehittämällä sekä aurinko- tai tuulienergiaa hyödyntämällä. (Simola 2010.)

Leväbiomassan keräys on myös haasteellista, koska nesteen ja kiinteän biomassan erottaminen on hankalaa, mikrolevien pienen solukoon vuoksi. On kehitettävä uusia tekniikoita, joilla saataisiin esikäsittelyn avulla erotettua kiinteät ainesosat

tehokkaammin kasvatusliuoksesta, jotta kasvatusliuosta voitaisiin kierrättää uudelleen mahdollisimman puhtaana.

Leväbioenergian kaupallisille markkinoille saattamiseksi koko leväbiomassan elinkaari tulisi organisoida katkeamattomaksi ja tehokkaaksi tuotannolliseksi ketjuksi. Tässä ketjussa tulisi ottaa huomioon, niin tuotannon energiatehokkuus, kuin prosessissa syntyvien sivutuotteiden hyödyntäminen sekä kasvatusliuosten kierrättäminen. Tuotannon tasaisuus ja tehokkuus, niin laadullisesti kuin määrällisesti, tulisi myös taata markkinoille.

Leväbioenergian tuotannon hyviä ja huonoja puolia on oheisessa Swot-analyysissä tarkasteltu pähkinänkuoressaan taulukossa 4. Materiaali analyysiin on saatu opinnäytetyöprosessin aikana läpikäydyistä lähteistä.

TAULUKKO 4. Swot-analyysi leväenergian tuotannosta

Vahvuudet	Heikkoudet
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ympäristöystävällisyys</li> <li>• Biohajoavuus ja ekologisuus</li> <li>• Levälajien laaja kirjo</li> <li>• Levien öljypitoisuus ja muut ominaisuudet</li> <li>• Ei vie pinta-alaa ruokakasveilta tai sademetsiltä</li> <li>• Voidaan kasvattaa myös suolaisissa vesissä ja jätevesissä</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tuotannon tasaisuuden takaamattomuus</li> <li>• Korjuumenetelmien tehottomuus</li> <li>• Korkea hinta</li> <li>• Levätutkimus keskeneräistä</li> <li>• Korkeat energiakustannukset suljetuissa kasvatusjärjestelmissä</li> </ul>
Mahdollisuudet	Uhat
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Energiatuotannon hajauttaminen</li> <li>• Riippuvaisuus uusiutumattomista polttoaineista vähenee</li> <li>• Uusiutuvan energian käytön nostaminen</li> <li>• Uusia työpaikkoja</li> <li>• Jäteveden puhdistus</li> <li>• Kasvatuskustannusten laskeminen sivutuotteiden hyödyntämisellä</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vaikutukset ekosysteemiin</li> <li>• Siirtogeenisten levien luontoon karkaaminen</li> </ul>



## 11 YHTEENVETO

Aldiga-projektin tarkoituksena on kartoittaa ja tutkia energiatuotantoon soveltuvia levälajeja, etsiä viljelyyn soveltuvia jätevirtoja sekä tutkia ja testata leväenergian soveltuvuutta Suomen olosuhteissa.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli testata Aldigan 100 litrasta fotobioreaktoria käytännössä. Tarkoituksena oli testata kahdella erillisellä kasvatustestauksella, kuinka mikrolevät käyttäytyvät ja kasvavat reaktorissa. Samalla tuotettiin leväbiomassaa jatkotutkimuksia varten. Mielenkiinnon kohteena oli myös hiilidioksidin syötön vaikutus ja toimivuus toisessa kasvatustestauksessa.



KUVIO 27. Aldigalla oli käytössään myös muita, isompia reaktoreita



Koska tarkoituksena oli tuottaa levää testaus- ja tutkimustarkoituksiin, kyseinen leväkasvatusreaktori oli maailmalla käytettyihin fotobioreaktoreihin verrattuna suhteellisen pieni. Aldigalla oli myös käytössään puolet suurempia reaktoreita (kuvio 27), jotka olivat käytössä samanaikaisesti pienemmän reaktorin kanssa.

Toinen testikasvatus osoitti mielestäni sen, että hiilidioksidin syöttöä tulee vielä hienosäätää tai kasvattaa levää isommissa yksiköissä. Koska kasvatusliuoksen tilavuus oli suhteellisen pieni, siinä kasvanut leväbiomassa oli herkkä reagoimaan hiilidioksidin syötöstä johtuvaan pH:n laskuun. Hiilidioksidin syöttö oli helpommin kontrolloitavissa isoimmissa yksiköissä, koska olosuhteet eivät heitelleet niin voimakkaasti.

Kasvatustestauksissa selvisi, että sopivan voimakas hiilidioksidinsyöttö eksponentiaalisen kasvun aikana edesauttoi levien kasvua reaktorissa, mutta liian voimakas syöttö tappoi niitä. Tästä johtuen siirrostettavan levän tuli olla tarpeeksi tiheä, tai aloittaa syöttö vasta kun kanta oli vahvistunut tarpeeksi. Hiilidioksidin syötön olisi voinut rakentaa myös ilmastuksen yhteyteen, jolloin edellä mainitut ongelmat olisi mahdollisesti voinut välttää.

Koska mikrolevät voivat käyttää veteen valmiiksi liuennutta hiilidioksidia, ja osa levistä bikarbonaattia, hiilidioksidin syöttö ei ole tarpeellinen aivan kasvatuksen alussa. Kasvatusliuosta tulisi mahdollisesti myös modifioida, jotta kasvuun tarvittavat ravinteet ja hiilen lähteet riittäisivät koko kasvatuksen ajaksi.

Kyseessä oli ensimmäinen kasvatus Aldigan fotobioreaktorissa, joten samalla täytyi etsiä ja testata erityyppisiä ilmastusvaihtoehtoja sekä mittalaitteistoja. Vaikka ilmastusta vaihdeltiin testausten aikana, reaktorin ilmastus ei ollut riittävä pitämään massaa tarpeeksi tasaisena ja levää vajosi pohjalle kasvatustestausten aikana. Ilmastusta tulisi kehittää siten, että se olisi riittävän voimakas, jotta massa pysyisi liikkeessä, mutta riittävän hellävarainen, jotta viljeltävä levälaji ei vahingoittuisi tai häiriintyisi virtauksesta. Myös kuplakoon pitäisi olla riittävän pieni tehokkaan kaasujen vaihdon takaamiseksi.

Hiilidioksidin syötön ja ilmastuksen lisäksi reaktoriin jäi vielä muitakin kehityskohteita. Lämpötila oli kasvatustestausten aikana hiukan liian suuri. LED-valot, viileämpiin tiloihin sijoittaminen tai viileämmällä ilmalla ilmastaminen

olisivat pitäneet reaktorin lämpötilan kasvun paremmin kurissa. Aldigan fotobioreaktorin hyvä puoli oli kuitenkin sen kapeus, koska valo pääsi paremmin valaisemaan koko reaktorin levämassan, eikä pimeitä alueita syntynyt niin laajoille alueille.

Fotobioreaktorin valokehikkoja voisi myös kehittää työturvallisemmiksi. Alkuperäinen idea LED-valoista korvaantui loisteputkilampuilla säästösyistä. Säästöistä huolimatta valot olisi hyvä suojata suojakuvulla tai muovipleksillä mahdollisilta roiskeilta työturvallisuuden takaamiseksi. Myös reaktorin materiaalia tai materiaalin paksuutta olisi voinut miettiä alun perin tarkemmin, sillä reaktori pullistui kokeen aikana suojakehikoista huolimatta. Myös reaktoria kaksi edeltävää, samasta materiaalista tehtyä versiota, eivät kestäneet esitestauksia pitemmälle.

Levän keräämisessä oli myös ongelmia nesteen ja biomassan erotuksen vuoksi, mutta bioflokculantti kitosaani näytti osaltaan tuovan helpotusta siihen. pH:n säädön avulla tehty flokkulointi oli hidas ja työläs prosessi. Tehty pH:n nosto hankaloitti myös sentrifugausta. Kitosaani ei tuonut samanlaisia ongelmia ja sentrifugausaikaa pystyttiin pitämään lyhyempänä.

Vaikka kasvatustestausten tulokset eivät ole täysin vertailtavissa keskenään, kokeet osoittavat kuitenkin, että *Chlorella pyrenoidosa* -levää voi kasvattaa Combo-kasvatusliuoksessa reaktorissa ja saavuttaa ainakin 0,36 g/l kuivapainopitoisuuksia.

Jatkotutkimuksissa reaktoreissa on tarkoituksena tutkia myös muita leviä sekä myös testaamaani *Chlorella Pyrenoidosa* -levää esimerkiksi jätevesissä, ja muissa kasvatusliuoksissa, joten todennäköisesti 0,36 g/l leväpitoisuudet olivat vasta hyvää alkua.

## LÄHTEET

Algae energy: Algae biofuel, biodiesel and renewable energy resource. 2012.

Cultivation [viitattu 1.10.2012]. Saatavissa: [http://algae-energy.co.uk/biofuel\\_production/cultivation/](http://algae-energy.co.uk/biofuel_production/cultivation/)

Autio, R. & Saloniemi, A. 2012. Aitotumalliset. Syke [viitattu 1.10.2012].

Saatavissa:

[http://www.itameriportaali.fi/fi/tietoa/elama/elioryhmat/mikrobit/fi\\_FI/aitotumalliset](http://www.itameriportaali.fi/fi/tietoa/elama/elioryhmat/mikrobit/fi_FI/aitotumalliset)

Biovasa. 2012. Bioclean, maatalouden desinfioiva pesuaine [viitattu 1.10.2012].

Saatavissa: <http://www.biovasa.fi/puhdistus-desinfiointi-aineet/bioclean-maatalouden-desinfioiva-pesuaine>

Borowitzka, M. A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters, *Journal of Biotechnology* 70, 313–321

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25 (2007). Institute of Technology and Engineering, Massey University. New Zealand. 294–306.

Chisti, Y. 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. Institute of Technology and Engineering, Massey University, New Zealand. Pdf- tiedosto saatavissa: <http://www.massey.ac.nz/~ychisti/Trends08.pdf>

Culture collection of algae protozoa. 2007. EG [viitattu 1.10.2012]. Pdf –tiedosto.

Saatavissa: <http://www.ccap.ac.uk/media/documents/EG.pdf>

Gouveia, L. 2011. Microalgae as a Feedstock for Biofuels. *SpringerBriefs in Microbiology*

Heikkilä, R. 2003. Äyriäisistä saatava kitosaani tuo apua moniin ongelmiin. YLE [viitattu 1.10.2012]. Saatavissa:

[http://yle.fi/vintti/yle.fi/akuutti/arkisto2003/281003\\_c.htm](http://yle.fi/vintti/yle.fi/akuutti/arkisto2003/281003_c.htm)

John, R. P. Anisha, G.S. Nampoothiri, K. M. & Pandey, A. 2011. Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. *Bioresource Technology* 102. Elsevier Ltd, 186–193

Johnson, M. B. & Wen, Z. 2010 Development of an attached microalgal growth system for biofuel production. *Appl Microbiol Biotechnol* 85. Springer Science+Business Media, 525–534

Kemira. 2012. Sekoitus ja flokkaus, Sekoitus ja flokkaustekniikan käyttö kemiallisessa saostuksessa [viitattu 13.11.2012].  
Saataavissa:[http://www.kemira.com/SiteCollectionDocuments/Media/Publications/Water/Sekoitus\\_ja\\_flokkaus\\_kayttoopas.pdf](http://www.kemira.com/SiteCollectionDocuments/Media/Publications/Water/Sekoitus_ja_flokkaus_kayttoopas.pdf)

Kilham, S. S. Kreeger, D. A. Lynn, S. G. Goulden C. E. & Herrera, L. 1998. COMBO: a defined freshwater culture medium for algae and zooplankton. *Hydrobiologia* 377, Kluwer Academic Publishers, 147-159.

Kokkonen, Y. 2012. WWF: Palmuöljyn tuotannon haittoja vähennetään. YLE Uutiset [viitattu 1.9.2012]. Saataavissa:  
[http://yle.fi/uutiset/wwf\\_palmuoljyn\\_tuotannon\\_haittoja\\_vahennetaan/5071140](http://yle.fi/uutiset/wwf_palmuoljyn_tuotannon_haittoja_vahennetaan/5071140)

Malm, A. 2009. Mikrobiomassan keräys ja tuotteiden talteenotto. Teknillinen korkeakoulu. Kemian ja materiaalitieteiden tiedekunta. Diplomityö

Microalgae Research. 2012. Get to know Chlorella [viitattu 13.11.2012]. Kuva saataavissa: <http://www.researchalgae.com/basic/get-to-know-chlorella.html>

Motiva Oy. 2012. Uusiutuvan energian käyttö Suomessa [viitattu 1.10.2012]. Saataavissa: [http://www.motiva.fi/toimialueet/uusiutuva\\_energia/uusiutuvan\\_energian\\_kaytto\\_suomessa/](http://www.motiva.fi/toimialueet/uusiutuva_energia/uusiutuvan_energian_kaytto_suomessa/)

NASA. 2012. OMEGA Offshore Membrane Enclosures for Growing Algae [viitattu 13.11.2012].  
Saataavissa:<http://www.nasa.gov/centers/ames/research/OMEGA/index.html>

Oilgae. 2012. Flat-Plate Photobioreactors [viitattu 13.11.2012]. Kuva  
saatavissa:<http://www.oilgae.com/algae/cult/pbr/typ/flp/flp.html>

Pohjola, A. 2010, Lukiolaisten vaihtoehtoiset käsitykset fotosynteesistä. Helsingin  
yliopisto, Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta, kemian  
opettajankoulutusyksikkö, pro-gradu tutkielma

Polvinen, H-L. 2012, DAF-flotaatio öljyisten jätevesien käsittelymenetelmänä.  
Oulun yliopisto, Teknillinen tiedekunta, ympäristötekniikka, kandidaatintyö

Rimppi H. 2009, Leväbiomassan tuotanto energiatarkoituksiin: Teknologian  
nykytila, haasteet ja mahdollisuudet Suomen olosuhteissa. Lappeenrannan  
teknillinen yliopisto, Teknillinen tiedekunta, ympäristötekniikan kandidaatintyö

Salim, S. Bosma, R. Vermuë, M. H. & Wijffels, R. H. 2011. Harvesting of  
microalgae by bio-flocculation. J Appl Phycol 23, Springer Science+Business  
Media, 849–855

Salomon, I. 2009. Vihreää kultaa. Tieteen kuvalehti 3/2009, 24-29.

Savolainen, T. 2007. Pian tankkaat öljypalmua, jätettä ja levää. Talentum Oyj  
[viitattu 1.10.2012]. Saatavissa:  
[http://www.tekniikkatalous.fi/energia/ilmastonmuutos/pian+tankkaat+oljypalmua  
+jatetta+ja+levaa/a41128](http://www.tekniikkatalous.fi/energia/ilmastonmuutos/pian+tankkaat+oljypalmua+jatetta+ja+levaa/a41128)

Siitonen, S. 2012. ALDIGA – jätteestä levää yhdistettyyn biodieselin ja biokaasun  
tuotantoon, 2010-2012. Gasum Oy [viitattu 1.10.2012]. Saatavissa:  
[http://www.gasum.fi/vastuullisuus/yhteiskunta/tutkimusjakehitys/Sivut/ALDIGA.  
aspx](http://www.gasum.fi/vastuullisuus/yhteiskunta/tutkimusjakehitys/Sivut/ALDIGA.aspx)

Simola, K. 2010. Levädieselin hiilijalanjälki voi olla jopa fossiilista polttoainetta  
suurempi. Talentum Oy [viitattu 1.10.2012] Saatavissa:  
[http://www.tekniikkatalous.fi/energia/levadieselin+hiilijalanjalki+voi+olla+jopa+f  
ossiilista+suurempi/a486241](http://www.tekniikkatalous.fi/energia/levadieselin+hiilijalanjalki+voi+olla+jopa+fossiilista+suurempi/a486241)

Singh, N. K. & Dhar, D. W. 2011. Microalgae as second generation biofuel. A review. *Agronomy Sust. Developm.* 31, Springer Science+Business Media, 605–629

Suomen virtuaaliyliopisto. 2006. Fotosynteesi [viitattu 1.10.2012]. Saatavissa: <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/fotosynteesi2/>

Suomen virtuaaliyliopisto. 2006. Levät [viitattu 1.10.2012]. Saatavissa: <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/levat/2/>

Tekes. 2012. Sanasto [viitattu 1.10.2012]. Saatavissa: [http://www.bioteknologia.info/lisatietoa/sanasto/fi\\_FI/sanasto/](http://www.bioteknologia.info/lisatietoa/sanasto/fi_FI/sanasto/)

Turun sanomat. 2010. Miksotrofia antaa öljylle potkua [viitattu 1.10.2012]. Saatavissa: <http://www.ts.fi/teemat/luonto/135392/Miksotrofia+antaa+oljylle+potkua>

Työterveyslaitos. 2011. OVA-ohje hiilidioksidi [viitattu 1.10.2012]. Saatavissa: <http://www.ttl.fi/ova/hiilidioksidi.html>

Valtion ympäristöhallinto. 2012. Levät [viitattu 1.10.2012]. Saatavissa: <http://www.ymparisto.fi/default.asp?node=7536&lan=fi>

Valtion ympäristöhallinto. 2012. Miksotrofia [viitattu 1.10.2012]. Saatavissa: <http://www.ymparisto.fi/default.asp?node=12939&lan=fi>

Wikipedia. 2010. Autotrofinen [viitattu 1.10.2012]. Saatavissa: <http://fi.wikipedia.org/wiki/Autotrofinen>

Wiser Oy. 2012. Wiser vesienkäsittely: vesien puhdistusta ja hapetusta [viitattu 13.11.2012]. Saatavissa: <http://www.wiser.fi/sivu.php?id=14>

## LIITTEET

LIITE 1. Kuvia teknisestä piirroksesta

LIITE 2. Tekninen piirros

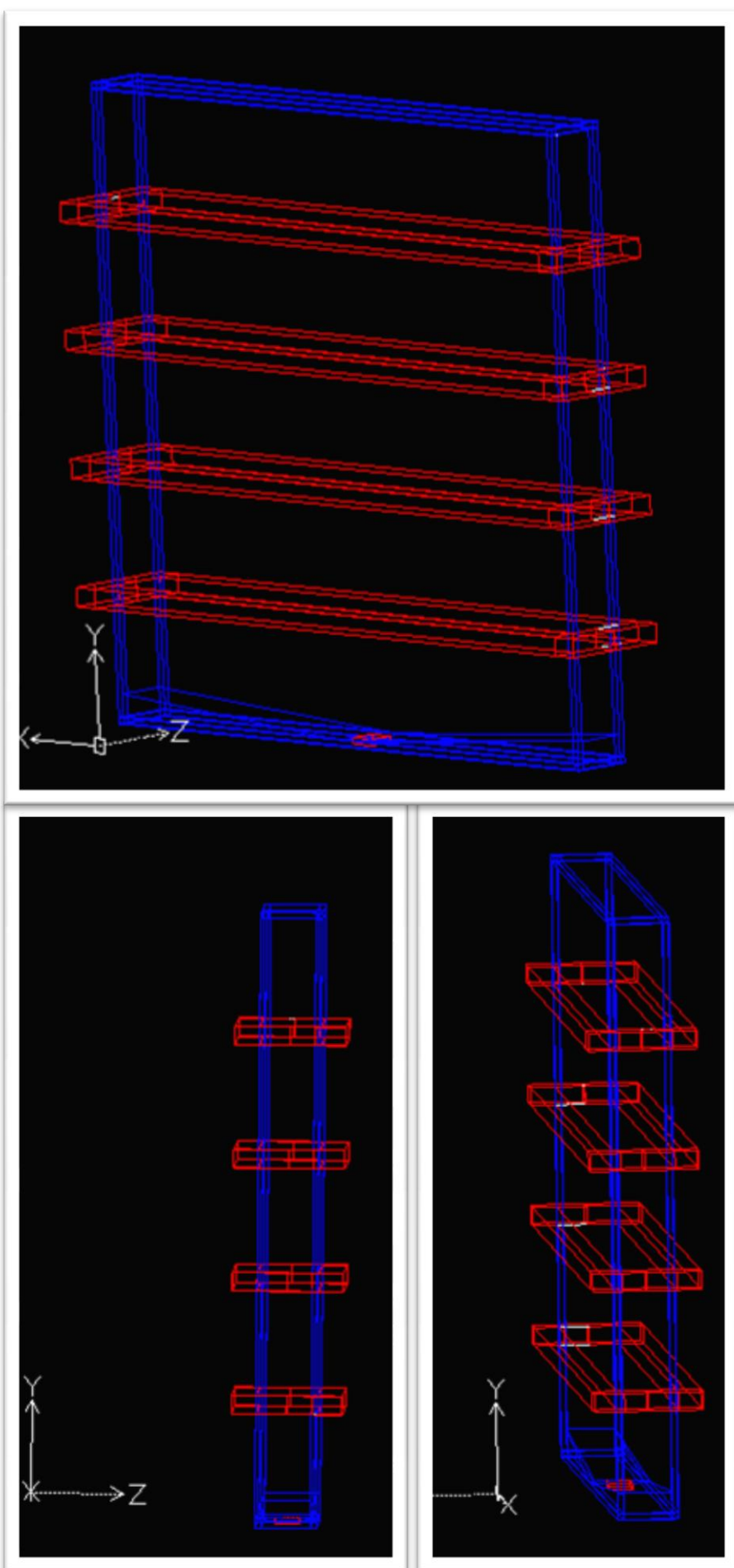
LIITE 3. Prosessikaavio

LIITE 4. Kuivapainon seurantataulukko, koe 1

LIITE 5. Kuivapainon seurantataulukko, koe 2.3

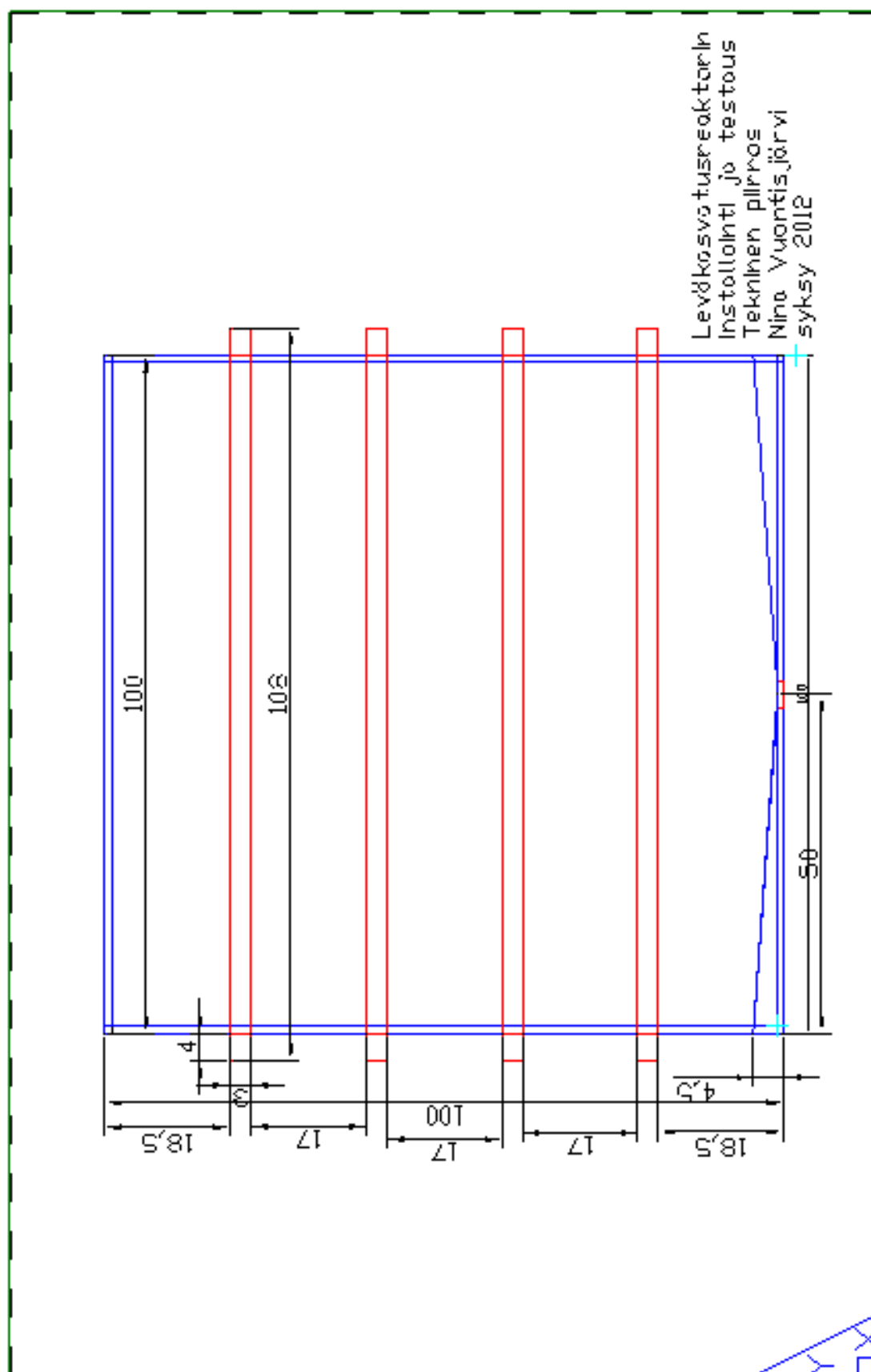
LIITE 6. Sameuden seurantataulukko, koe 1 ja 2.3

LIITE 1.

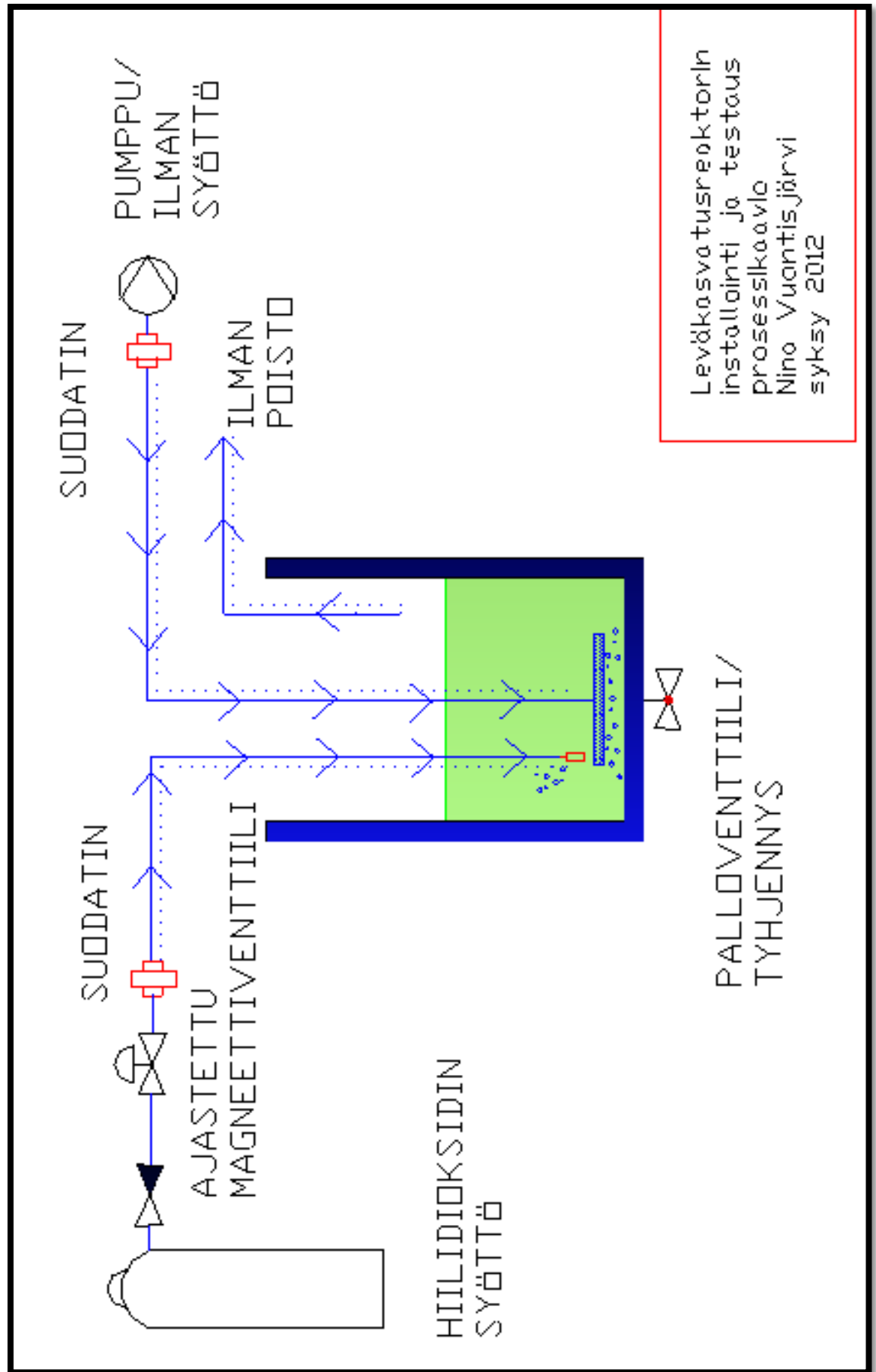




## LIITE 2.



LIITE 3.



LIITE 4.

Leväkasvatusreaktorin kasvatustestaus koe 1. Toteutettu 10.4.2012-2.5.2012 välisenä aikana									
Leväkasvatusreaktorin kuivapainon seuranta									
<i>Chlorella Pyrenoidosa: kasvatustestaus, koe I</i>									
Päivä	Näyte	suodatin (g)	Näyte + suodat	Kuivapaino (g)	Suodatettu (ml)	Paino g/ml	Paino g/l	KA	Huom!
1	Reaktori	0,0915	0,0917	0,0002	50	0,000004	0,0040		
1	Reaktori	0,0917	0,0918	0,0001	50	0,000002	0,0020		
1	Reaktori	0,0923	0,0925	0,0002	40	0,000005	0,0050	0,004	
2	Reaktori	0,0909	0,0913	0,0004	50	0,000008	0,0080		
2	Reaktori	0,0914	0,0917	0,0003	50	0,000006	0,0060		
2	Reaktori	0,0928	0,093	0,0002	45	0,000004	0,0044	0,006	
3	Reaktori	0,0923	0,0929	0,0006	60	0,000010	0,0100		
3	Reaktori	0,0917	0,0921	0,0004	60	0,000007	0,0067		
3	Reaktori	0,0907	0,091	0,0003	60	0,000005	0,0050	0,007	
4	Reaktori	0,0907	0,0921	0,0014	50	0,000028	0,0280		
4	Reaktori	0,0915	0,0916	0,0001	50	0,000002	0,0020		
4	Reaktori	0,0909	0,0914	0,0005	50	0,000010	0,0100	0,013	
5									
6									
7	Reaktori	0,0931	0,0952	0,0021	25	0,000084	0,0840		
7	Reaktori	0,0903	0,0921	0,0018	25	0,000072	0,0720		
7	Reaktori	0,0916	0,0932	0,0016	25	0,000064	0,0640	0,073	
8	Reaktori	0,0908	0,0928	0,002	20	0,000100	0,1000		
8	Reaktori	0,0931	0,094	0,0009	15	0,000060	0,0600		
8	Reaktori	0,0927	0,0939	0,0012	15	0,000080	0,0800	0,080	
9	Reaktori	0,094	0,0952	0,0012	15	0,000080	0,0800		
9	Reaktori	0,0925	0,0941	0,0016	15	0,000107	0,1067		
9	Reaktori	0,0929	0,0945	0,0016	15	0,000107	0,1067	0,098	
10	Reaktori	0,0911	0,0926	0,0015	15	0,000100	0,1000		
10	Reaktori	0,0907	0,0918	0,0011	10	0,000110	0,1100		
10	Reaktori	0,092	0,0934	0,0014	10	0,000140	0,1400	0,117	
11	Reaktori	0,0902	0,0919	0,0017	15	0,000113	0,1133		
11	Reaktori	0,0901	0,0924	0,0023	15	0,000153	0,1533		
11	Reaktori	0,0915	0,0944	0,0029	15	0,000193	0,1933	0,153	
12									
13									
14	Reaktori	0,0925	0,095	0,0025	15	0,000167	0,1667		
14	Reaktori	0,091	0,0937	0,0027	15	0,000180	0,1800		
14	Reaktori	0,0906	0,0931	0,0025	15	0,000167	0,1667	0,171	
15	Reaktori	0,0921	0,0949	0,0028	15	0,000187	0,1867		
15	Reaktori	0,0912	0,0936	0,0024	15	0,000160	0,1600		
15	Reaktori	0,0914	0,0939	0,0025	15	0,000167	0,1667	0,171	
16	Reaktori	0,0932	0,0958	0,0026	15	0,000173	0,1733		
16	Reaktori	0,0909	0,0933	0,0024	15	0,000160	0,1600		
16	Reaktori	0,091	0,0932	0,0022	15	0,000147	0,1467	0,160	
17	Reaktori	0,0917	0,095	0,0033	15	0,000220	0,2200		
17	Reaktori	0,0928	0,0963	0,0035	15	0,000233	0,2333		
17	Reaktori	0,0902	0,0935	0,0033	15	0,000220	0,2200	0,224	
18	Reaktori	0,0912	0,0942	0,003	15	0,000200	0,2000		
18	Reaktori	0,0923	0,0943	0,002	10	0,000200	0,2000		
18	Reaktori	0,0926	0,0946	0,002	10	0,000200	0,2000	0,200	
19									
20									
21	Reaktori	0,0931	0,0954	0,0023	10	0,000230	0,2300		
21	Reaktori	0,0895	0,092	0,0025	10	0,000250	0,2500		
21	Reaktori	0,0927	0,0956	0,0029	10	0,000290	0,2900	0,257	
22									
23	Reaktori	0,0924	0,0948	0,0024	10	0,000240	0,2400		
23	Reaktori	0,0895	0,0909	0,0014	10	0,000140	0,1400		
23	Reaktori	0,0954	0,0983	0,0029	10	0,000290	0,2900	0,223	

LIITE 5.

Leväkasvatusreaktorin kasvatustestaus, koe 2.3 Toteutettu 13.6.2012-27.6.2012 välisenä aikana

## Leväkasvatusreaktorin kuivapainon seuranta

*Chlorella Pyrenoidosa; kasvatustestaus, koe 2.3*

Päivä	Näyte	suodatin (g)	Näyte + suoda	Kuivapaino (g)	Suodatettu (ml)	Paino g/ml	Paino g/l	KA	Huom!
1									
2	Reaktori	0,0909	0,0912	0,0003	50	0,000006	0,0060		
2	Reaktori	0,0883	0,0885	0,0002	50	0,000004	0,0040		
2	Reaktori	0,0893	0,0897	0,0004	75	0,000005	0,0053	0,005	
3	Reaktori	0,0873	0,089	0,0017	50	0,000034	0,0340		
3	Reaktori	0,088	0,0905	0,0025	50	0,000050	0,0500		
3	Reaktori	0,0889	0,0904	0,0015	50	0,000030	0,0300	0,038	
4									
5									
6	Reaktori	0,09	0,0932	0,0032	25	0,000128	0,1280		
6	Reaktori	0,0877	0,0909	0,0032	20	0,000160	0,1600		
6	Reaktori	0,0895	0,0924	0,0029	20	0,000145	0,1450	0,144	
7	Reaktori	0,0869	0,0911	0,0042	20	0,000210	0,2100		
7	Reaktori	0,0898	0,0913	0,0015	20	0,000075	0,0750	0,143	
8	Reaktori	0,0859	0,0899	0,004	20	0,000200	0,2000		
8	Reaktori	0,0839	0,0902	0,0063	20	0,000315	0,3150		
8	Reaktori	0,086	0,0917	0,0057	20	0,000285	0,2850	0,267	
9	Reaktori	0,0893	0,0943	0,005	20	0,000250	0,2500		
9	Reaktori	0,089	0,0949	0,0059	20	0,000295	0,2950		
9	Reaktori	0,0838	0,0935	0,0097	20	0,000485	0,4850	0,343	
10	Reaktori	0,0841	0,0924	0,0083	15	0,000553	0,5533		
10	Reaktori	0,0888	0,0926	0,0038	15	0,000253	0,2533		
10	Reaktori	0,0894	0,0936	0,0042	15	0,000280	0,2800	0,362	
11									
12									
13									
14	Reaktori	0,09	0,0956	0,0056	20	0,000280	0,2800		
14	Reaktori	0,0887	0,0928	0,0041	15	0,000273	0,2733		
14	Reaktori	0,0879	0,0924	0,0045	15	0,000300	0,3000	0,284	
15	Reaktori	0,0877	0,0918	0,0041	15	0,000273	0,2733		
15	Reaktori	0,0873	0,0921	0,0048	15	0,000320	0,3200		
15	Reaktori	0,0899	0,0937	0,0038	15	0,000253	0,2533	0,282	
16	Reaktori	0,0896	0,0955	0,0059	20	0,000295	0,2950		
16	Reaktori	0,0888	0,0944	0,0056	15	0,000373	0,3733		
16	Reaktori	0,0891	0,0931	0,004	15	0,000267	0,2667	0,312	

LIITE 6.

Kasvatustestausten turbiditeetin (sameuden) mittaustulokset		
päivä	koe1: sameus (NTU)	koe2.3: sameus (NTU)
1		1
2	0	2
3	1	7
4	2	
5		
6		31
7	17	34
8	23	69
9	30	131
10	35	
11	40	
12		
13		154
14	63	179
15	62	159
16	61	
17		
18	69	
19		
20		
21	100	

LIITE 7.

Leväkasvatusreaktorin kasvatustestaus, koe nro 1. Toteutettu 10.4.2012-2.5.2012 välisenä aikana

# REAKTORIN LÄMPÖTILAN JA PH:N KEHITYS

*Chlorella Pyrenoidosa: kasvatustestaus koe 1*

päivä	aika(klo)	lämpötila °C	Ph	Huom!
1	15:00	15,35	7,92	
1	15:30		7,58	
2	9:05	23,25	7,86	Mitattu ennen valoja!
2	10:45	24,50	8,09	
2	14:20	24,95	8,13	
3	9:11	24,06	8,14	Mitattu ennen valoja!
3	14:20	25,95	8,32	
3	16:15	25,50		
4	9:10	25,25	8,08	Mitattu ennen valoja!
4	10:30	25,40	8,26	
4	15:30	26,60	8,76	
5				
6				
7	13:04	26,60	9,47	
8	9:05	25,45	9,66	Mitattu ennen valoja!
8	10:06	25,50	9,95	
8	15:20	27,35	10,06	
9	9:10	25,60	9,90	Mitattu ennen valoja!
9	10:20	25,80	9,95	
9	14:30	27,30	9,90	
10	9:15	25,60	9,71	Mitattu ennen valoja!
10	14:00	27,15	9,82	
10	16:00	27,70	9,85	
11	9:20	25,65	9,61	Mitattu ennen valoja!
11	12:40	26,75	9,74	
11	15:10	27,45	9,97	
12				
13				
14	9:30	26,45	10,35	
14	12:30	27,55	10,62	
14	14:00	28,05	10,60	
15	9:15	26,65	10,03	Mitattu ennen valoja!
15	12:00	26,80	9,94	HOHKAKIVIEN VAIHTO,
15	14:20	27,65	9,88	ILMASTUS EI TOIMINUT KUNNOLLA!
16	9:20	26,65	8,71	
16	12:20	27,40	8,85	
16	14:30	28,10	8,93	
17	16:10	28,60	8,88	
18	9:15	27,20	8,22	Mitattu ennen valoja!
18	10:20	27,25	8,43	
18	15:30	28,45	8,91	
19				
20				
21	9:15	27,65	8,08	Mitattu ennen valoja!
21	12:15	28,30	8,63	
22				
23	9:15	27,15	7,99	Mitattu ennen valoja!

LIITE 8.

Leväkasvatusreaktorin kasvatustestaus: koe 2.3. Toteutettu 13.6.2012-27.6.2012 välisenä aikana.

## REAKTORIN LÄMPÖTILAN JA PH:N KEHITYS

*Chlorella Pyrenoidosa: kasvatustestaus, koe 2.3*

päivä	aika(klo)	lämpötila °C	Ph	Huom!
1	14:00	16,50	8,28	10ml HCl klo 14:00, 2,6l ympäriä klo 14:40
1	16:00	18,50	7,86	
2	9:20	25,10	8,09	ennen valoja
2	10:40	25,50	8,15	
2	15:00	27,20	8,16	
3	9:30	26,60	8,53	
3	13:00	27,80	9,14	Mittauksen jälkeen 10ml HCl
3	15:00	27,60	8,85	Mittauksen jälkeen 5ml HCl
3	15:10	28,30	8,61	
4				
5				
6	9:30	25,80	8,73	
6	12:25	26,50	9,33	
6	14:10	27,20	8,67	Co2 syötön jälkeen
6	15:30	27,80	9,20	
6	16:15		7,40	Co2 syötön jälkeen
7	9:20	26,60	8,30	
7	9:40	27,10	7,74	
7	13:40	27,10	9,06	
7	14:15	27,40	8,25	
8	9:25	25,70	7,83	
8	12:53	26,60	8,70	
8	15:10	26,90	8,91	
9	9:45	25,40	8,10	
9	13:50	26,80	9,20	
9	14:45	27,50	9,15	
10				
11				
12				
13	9:25	26,30	7,49	
13	11:26	27,00	8,14	
13	14:20	27,90	7,95	
13	15:30	28,80	8,26	
14	9:19	26,90	7,83	
14	15:30	28,90	8,24	
15	9:40	26,00	7,17	
15	14:40	27,40	8,17	